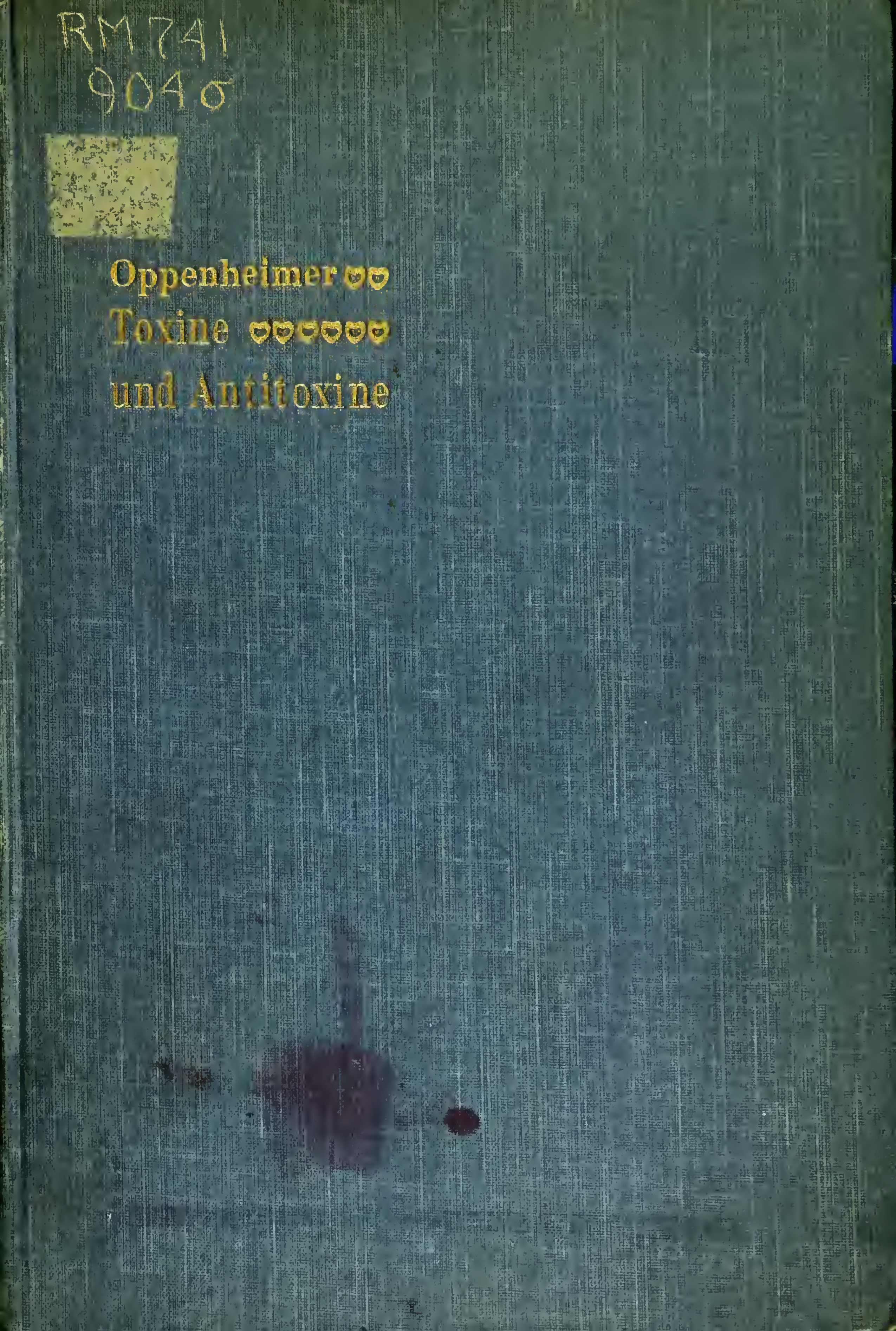


RM741
904o
Oppenheimer
Toxine
und Antitoxine


SIGILL:COLL:YALEN:NOV:PORT:NOV:ANGL
LUX ET VERITAS
אורים ותמים
"I give these Books for the founding of a College in this Colony"





TOXINE UND ANTITOXINE

von

Dr. phil. et med. **Carl Oppenheimer**
Assistent am tierphys. Institute d. Landw. Hochschule, Berlin.



Jena
Verlag von Gustav Fischer
1904.

Vorwort.

Der Plan dieses Buches, das gewissermaßen eine Ergänzung zu den »Fermenten« darstellen sollte, war bei mir schon lange vorhanden, als mir von seiten der Herausgeber des »Handbuches der pathogenen Mikroorganismen«, den Herren Proff. KOLLE und WASSERMANN, der höchst ehrenvolle Auftrag zuteil wurde, für dieses Werk das Kapitel »Bakteriengifte« zu bearbeiten.

Dank dem außerordentlich liebenswürdigen Entgegenkommen dieser Herren und des Verlagshauses ließ es sich ermöglichen, beide Pläne zu vereinbaren. So ist denn der »Allgemeine Teil« dieses Buches, von einigen Aenderungen abgesehen, bereits im I. Bande des »Handbuches« erschienen (1902), das auch vielleicht noch einige Bruchstücke des speziellen Teiles übernehmen wird.

Der Plan des Werkes war, alles uns bisher Bekannte über Toxine irgend welcher Herkunft zusammenzufassen, wobei der Begriff des Toxins ganz unabhängig von der Quelle des Giftes chemisch und auf der Basis der Seitenkettentheorie fundiert wurde.

Daraus folgt, dass dieses Buch zwar in einer Beziehung einheitlich werden, nämlich thatsächlich zusammenhängend eine Darstellung aller Toxine geben konnte. Andererseits aber lag es nicht in meinem Plane, alle zweifelhaften Giftstoffe der Pflanzen und Tiere zu besprechen. So sind denn manche tierischen und pflanzlichen Gifte, deren Toxinnatur in Zweifel steht, ganz aphoristisch (Fischgifte), andere (z. B. Bienengift, das wahrscheinlich basischer Natur ist) gar nicht besprochen.

Für den Versuch, die Toxine selbst und ihre Antitoxine genau zu beschreiben, standen mir größere litterarische Vorarbeiten so gut wie gar nicht zu Gebote.

So habe ich, soweit irgend möglich, nur aus den Originalarbeiten geschöpft. Ich muss leider fürchten, dass trotzdem das Buch ein Torso bleibt, denn die Angaben über die Toxine sind so zerstreut und manchmal in Arbeiten scheinbar anderen Zieles versteckt, dass wohl manche Thatsache mir entgangen sein mag.

Berlin, Dezember 1903.

Carl Oppenheimer.

Inhaltsverzeichnis.

Allgemeiner Teil.

Spezieller Teil.

I. Die echten Toxine.

II. Die Endotoxine und andere Bakteriengifte.

III. Die pflanzlichen Toxine (Phytotoxine).

IV. Die tierischen Toxine (Zootoxine).

Allgemeiner Teil.

Einleitung.

Schon kurze Zeit, nachdem der Bakteriologie durch Robert Koch feste Wege gewiesen waren, drang die Ueberzeugung durch, dass weniger die Bakterien selbst es sind, die die verheerenden Wirkungen der Infektionskrankheiten hervorrufen; man erkannte bald, dass die kleinen Lebewesen meist nur mittelbar schädlich sind; dass es ihre chemischen Produkte sein müssen, die die eigentliche Noxe darstellen.

Besonders Brieger war es, der schon sehr frühzeitig darauf hinwies, dass man nach den spezifischen Giften der Bakterien suchen müsse, und der selbst bestrebt war, diese supponierten Gifte aufzusuchen und darzustellen.

Er isolierte zuerst aus den Kultursubstraten, die durch das Wachstum der Bakterien verändert waren, besonders aus Fäulnisgemischen, eine Reihe von wohlcharakterisierten chemischen Substanzen, die Ptomaïne, stickstoffhaltige Basen, die zum Teil eminent toxisch waren. Indessen erwiesen sich diese Stoffe nicht als die eigentlichen Bakteriengifte. Diese Gifte stellen nicht die Waffe der Parasiten im lebenden Körper dar; die spezifischen Bakteriengifte, die zuerst den Namen »Toxine« als Sammelbegriff erhielten, sind es nicht. Allmählich hat dann der Begriff des Toxins naturgemäß jene Spezialisierung erfahren, die ihn aus dem Begriff des aus Bakterien oder aus der von Bakterien belebten Zersetzungsmasse isolierten Giftstoffes umzumodeln bestrebt war in den Begriff des spezifischen, die spezifische Erkrankung hervorrufenden Bakteriengiftes. Dahin ging die Tendenz der Differenzierung jenes Begriffes, ohne dass diese Tendenz immer klar zum Bewusstsein, geschweige denn zum Ausdruck gekommen wäre. Zur Erhöhung der Begriffsverwirrung trug noch bei, dass man eine Reihe von Bakteriengiften, die den Eiweißkörpern nahezustehen schienen, mit dem Namen der Toxalbumine bezeichnete. Darunter verstand man zum Teil die Gifte, die wir heute als echte Toxine anzusehen haben, aber auch andere, die mit ihnen nichts weiter gemein haben als ihre scheinbar eiweißartige Natur.

Andererseits aber war eine prinzipiell sehr wichtige und weittragende Folge dieser Arbeiten die Parallelsetzung dieser Bakterientoxalbumine

mit anderen Toxalbuminen des Tier- und Pflanzenreiches, nämlich den Schlangengiften und ähnlichen Toxalbuminen einerseits und den von Kobert und seinen Schülern zuerst genauer bearbeiteten giftigen Pflanzeneiweißen Ricin, Abrin und Krotin andererseits. Die wichtigste Konsequenz dieser Anschauung wurde erst später, besonders von Ehrlich, Calmette u. a. gezogen, dass nämlich thatsächlich die spezifischen Bakteriengifte in einer fundamentalen Eigenschaft sich mit den erwähnten Zellprodukten höherer Organismen treffen, nämlich in der Bildung spezifischer »Antikörper« im Organismus des angegriffenen Tieres, so dass für ihre Wirksamkeit ganz allgemein die Ehrlichsche Seitenkettentheorie herangezogen werden kann. Diese Gifte sind im Ehrlichschen Sinne »Haptine« und es ist prinzipiell von geringerer Bedeutung, welches ihre Provenienz ist. Briegers großes Verdienst ist es, zuerst die Bakterientoxine in Beziehung zu anderen bekannten Giftstoffen gebracht zu haben. Daneben ist es nicht sehr wesentlich, wenn Briegers Ansichten, und zwar nicht zum mindesten durch seine eigenen Arbeiten, in zwei Punkten eine Modifikation erleiden mussten. Zunächst gelten diese festgestellten Beziehungen zu den anderen Toxalbuminen nicht für alle von Brieger dargestellten Bakteriengifte: eine große Zahl derselben sind Stoffe von nicht spezifischer Natur, nicht vergleichbar dem Ricin u. s. w., weil sie keine Haptine sind; es bleiben im wesentlichen eigentlich nur die Gifte der Diphtherie, des Tetanus, Bac. Botulinus und Pyocyaneus als Typen der echten Toxine (sowie das Tetanolysin, Staphylolysin und Staphyloleukoeidin, wahrscheinlich auch die blutlösenden Gifte anderer Bakterien), zu denen sich noch einige andere, wahrscheinlich hierher gehörige gesellen, z. B. Cholera und Typhus; außerdem aber hat Brieger selbst später seinem Diphtherietoxin die Eiweißnatur abgesprochen, ebenso ist sie für das Ricin sehr zweifelhaft geworden, während die Schlangengifte auch nach dem heutigen Stande unserer Kenntnisse Proteïne zu sein scheinen. Indessen ist das prinzipiell ebenso untergeordnet, wie wir bei den so ähnlichen Fermenten vermutlich neben wirklichen Proteïnen (Trypsin, Diastase [?]) auch hochmolekulare Stoffe anderer Art (Pepsin, Invertase) finden. Der Begriff des eigentlichen »Toxins« ist danach für die Bakteriengifte in folgender Weise zu entwickeln.

Alle Bakterien erzeugen in den sie beherbergenden Medien irgend welche chemische Substanzen.

Wenn auch viele der auf verschiedenste Weise dargestellten Bakterienstoffe Produkte sekundärer Umwandlungen durch zu eingreifende chemische Manipulationen sind, so ist doch sicherlich ein Teil derselben ein primäres Produkt des bakteriellen Stoffwechsels.

Diese Stoffwechselprodukte sind zum Teil mehr oder weniger heftige Gifte. Darin unterscheiden sich generell die pathogenen Mikroben nicht von den für die Krankheitsentstehung gleichgiltigen.

Wenn also auch derartige Stoffe giftig sind, so haben sie doch sicherlich mit der Vergiftung des Organismus bei einer Invasion der Bakterien nichts zu schaffen, auch wenn sie durch pathogene Mikroben erzeugt sind. Jene Gifte, wie z. B. das Neurin, haben ihre eigenartige Wirkung, ob sie durch Bakterien oder rein chemisch hergestellt sind. Sie sind also zuerst von dem Begriff des »Toxins« abzusondern.

Zum zweiten hat man aus den Leibern zahlreicher pathogener Mikroben durch verschiedenartige Prozeduren eine Reihe von Stoffen hergestellt, die eiweißähnliche Natur besitzen, wie die Bakterienproteïne Buchners, und mehr oder minder giftig sind. Aber diese giftigen Wirkungen sind nur sehr wenig verschieden nach der Provenienz ihrer Träger, sie tragen nicht den Charakter des Spezifischen, rufen niemals Erscheinungen hervor, die der spezifischen Erkrankung ähnlich sehen. Ferner enthalten noch viele Bakterien in ihrem Zellprotoplasma giftig wirkende Eiweißstoffe, die von dem Proteïn nicht zu isolieren, und auch größtenteils nicht spezifisch sind.

Was bleibt nun schließlich zur Füllung des Begriffes Toxin übrig? Einige pathogene Bakterien erzeugen, wenn man sie in Reinkultur züchtet, in den Kulturflüssigkeiten gelöste Gifte, die nur durch sehr schonendes Vorgehen in unverändertem und konzentriertem, wenn auch nicht in reinem Zustand gewonnen werden können, Stoffe, die keine Ptomaïne und keine Eiweißkörper sind (s. unten). Derartige Stoffe sind besonders aus den Reinkulturen von Diphtherie- und Tetanusbazillen gewonnen worden und sie sind die echten Bakterientoxine im engeren Sinne. In ganz analoger Weise muss man alle chemisch näher bestimmbaren giftigen Stoffe, die von den Zellen höherer Pflanzen und Tiere gebildet werden, von den Toxinen lostrennen.

Diese bilden eine Klasse von Substanzen, die unbeschadet ihrer Herkunft in ihrer Natur und eigentümlichen Wirkungsart ihre Definition finden.

Die Toxine sind charakterisiert zunächst durch eine Summe äußerer Merkmale: Sie sind von völlig unbekannter chemischer Struktur, außerordentlich labil, sehr empfindlich schon gegen geringfügige chemische Eingriffe, besonders aber gegen Erwärmen. Sie sind keine Eiweißkörper, also keine Toxalbumine. Sie zeigen eine außerordentlich weitgehende Analogie mit den Fermenten.

Physiologisch sind sie charakterisiert durch eine unter geeigneten Umständen außerordentlich hohe Giftigkeit, die alle anderen bekannten Gifte weit hinter sich lässt. Fast alle Toxine zeigen fernerhin die Eigentümlichkeit, dass sie nicht sofort wirken, sondern erst nach einer gewissen Latenzperiode, einer Inkubationszeit, ganz analog der Vergiftung mit lebenden Bakterien. Sie zeigen trotz ihrer für manche Tiere enormen Giftigkeit, die selbst die der energischsten einfachen Gifte, wie der Blausäure, übertrifft, nur in wenigen Fällen (z. B. Schlangengift) die foudroyante Wirkung, die diesen oft eigen ist. Sie sind ferner vor allem

charakterisiert durch die strenge Spezifizität ihrer Wirkung. Die Toxine zeigen eigentümliche, für ihre Gruppe charakteristische Wirkungen, auf die wir unten zurückkommen werden. Daneben hat jedes Toxin noch eine besondere Wirkungsart, die bei den Bakterientoxinen einen engen Zusammenhang mit der durch ihre Mutterzelle erzeugten Krankheit zeigt, und beim Tetanusgift bis zur völligen Analogie wird. Sie sind auch in anderem Sinne streng spezifisch, d. h. sie vermögen nur gewisse Lebewesen zu schädigen, während sie andere, zum Teil eng verwandte, völlig unbeeinflusst lassen, wodurch sie in wichtige, fundamental bedeutsame Beziehungen zur natürlichen Immunität treten; nicht minder wichtig sind ihre Beziehungen zur erworbenen Immunität dadurch, dass es eine grundlegende Eigenschaft der Toxine ist, im angegriffenen Organismus Gegengifte streng spezifischer Natur zu bilden, die die Gifte in vivo unschädlich machen und die, vom erzeugenden Organismus losgetrennt, auch in vitro ihre spezifische, neutralisierende Wirkung auf ihr zugehöriges Toxin und nur auf dieses entfalten. Zu jedem echten Toxin gehört also auch ein echtes Antitoxin.

Andererseits sind bisher alle Versuche, gegen einfache krystalloïde Gifte wahrhafte Antitoxine zu erzeugen, fehlgeschlagen. Auch die letzte diesbezügliche Behauptung von Hirschlaff[1]), der ein Antimorphinserum hergestellt haben wollte, ist von Morgenroth[2]) als völlig unbewiesen und auf mangelnder Genauigkeit in der Einstellung der Dosis letalis minima beruhend nachgewiesen worden.

Doch nicht nur chemisch und physiologisch haben wir jetzt das Material in der Hand, um absolut scharf den Begriff des Toxins zu begrenzen, wir haben auch noch eine willkommene Ergänzung dieser Definition in der theoretischen Fundierung. Ein Toxin ist ein Gift, das nach der Ehrlichschen Seitenkettentheorie mindestens zwei spezifische Atomgruppen besitzt, eine haptophore, die die Verknüpfung mit der anzugreifenden Zelle besorgt und eine toxophore, die die deletäre, die Giftwirkung vollzieht. Jeder Stoff, der zu bestimmten Protoplasmakomplexen eine spezifische Affinität, eine passende haptophore Gruppe besitzt, ist ein Haptin, und jedes giftige Haptin, das also noch eine toxophore Gruppe besitzt, ist ein Toxin.

Wir müssen also in dieser Weise die Definition des Toxins fassen, und jeden giftigen Stoff, der kein Haptin ist, kein Antitoxin erzeugt, streng von den Toxinen sondern.

Bei den tierischen und pflanzlichen Toxinen ist das viel leichter geschehen; niemandem wird es einfallen, die Alkaloïde u. s. w. der Pflanzen

---

[1]) Hirschlaff, Antimorphinserum. Berl. klin. Woch., 1902.

[2]) Morgenroth, Zur Frage d. Antimorphinserums. Berl. klin. Woch., 1903, 21.

und die wenigen aus tierischen Sekreten und Organen zu erhaltenden giftigen kristalloïden Stoffe, wie z. B. die Alkaloïde der Krötenhaut, das Adrenalin u. s. w. den Toxinen im engeren Sinne beizuordnen.

Sehr viel wichtiger aber ist es, mit Hilfe dieser scharfen Definition auf dem Gebiet der Bakteriengifte Ordnung zu schaffen.

Wir müssen zunächst alle aus Bakterien etwa zu erhaltenden, *nicht spezifischen* Stoffe, wie oben auseinandergesetzt, davon trennen.

Was aber die Sachlage noch mehr kompliziert, ist der Umstand, dass es wahrscheinlich *spezifische Bakteriengifte* giebt, die nur von bestimmten Bakteriengruppen erzeugt, spezifische Wirkungen auslösen, die aber, weil sie keine Haptine sind und keine Antikörper bilden, keine *Toxine* sind. Derartige Gifte scheinen z. B. bei der Tuberkulose eine Rolle zu spielen. Wir werden diese Gifte im speziellen Teil kurz erwähnen. Außer ihnen giebt es dann noch eine ganze Reihe von sehr ungenügend bekannten Bakteriengiften, deren Spezifizität sowohl wie ihre toxinähnliche Natur noch starken Zweifeln begegnet.

Am schwierigsten ist die Frage der Gifte, die von einigen Bakterien, besonders der Cholera und des Typhus erzeugt werden. Ihre Toxine sind in freiem Zustande kaum bekannt, die von ihnen *sezernierten* Gifte scheinen auch nicht die eigentlichen Toxine zu sein; dagegen finden wir bei ihnen einen anderen Typus, nämlich fest an die lebende Zelle gebundene *Endotoxine*, vergleichbar den Endoenzymen der Hefe und der tierischen Organe, die einer näheren Untersuchung große Schwierigkeiten bereiten. Wir werden darauf unten näher zurückkommen.

Allgemeines über Toxine.

Die echten Toxine, wie wir sie oben definiert haben, sind, um es nochmals zu rekapitulieren, charakterisiert durch eine Summe physikalischer und chemischer Merkmale, die wir des näheren zu besprechen haben werden, sowie durch die fundamentale Eigenschaft, in geeigneten Organismen eine Abstoßung freier haptophorer Seitenketten zu veranlassen, *Antitoxine* zu erzeugen.

Wenn auch jedes einzelne Toxin für sich eigene Kennzeichen besitzt, denen wir erst im speziellen Teil gerecht werden können, so zeigen doch alle echten Toxine eine Reihe gemeinsamer Eigenschaften, die es rechtfertigen, zusammenfassend besprochen zu werden.

Diese Eigenschaften teilen die Bakterientoxine mit den übrigen uns bekannten Toxinen, den *Schlangengiften*, dem Gift des *Aal- und Muränenblutes*, dem *Spinnen- und Krötengift*, dem *Ricin*, *Abrin*, *Krotin* u. s. w.

Gemeinschaftlich ist den Bakterientoxinen zunächst die *Art ihrer Entstehung*. Man hat sie aufzufassen nicht etwa als Produkte der durch die bakterielle Invasion veränderten Kulturmedien, sondern, wie

auch BUCHNER[1]) hervorhebt, als wirkliche echte Produkte des Zellprotoplasmas, als Sekretionsprodukte der Bakterienzelle; gerade so wie die Pankreasdrüsenzelle ihr Trypsin, die Kleberzelle des Weizenendosperms die Diastase produziert und sezerniert, so sezernieren die Bakterienzellen ihre spezifischen Toxine. Dass diese bei gewissen Mikroben unter Umständen recht fest an dem Protoplasma haften wie bei Cholera u. s. w., ist auch durchaus nicht ohne Analogie bei den Fermenten, wo sich bei den Hefenenzymen ganz dieselben Verhältnisse finden.

Auf den ihnen zusagenden Nährböden bilden diejenigen pathogenen Mikroben, die Toxinerzeuger sind, ihre charakteristischen Gifte gewöhnlich schon nach sehr kurzer Zeit. SPRONCK[2]) erhielt schon nach 48 Stunden sehr wirksames Diphtherietoxin.

Doch nimmt die Toxizität mit dem Alter der Kultur zu. ROUX & YERSIN[3]) fanden, dass dieselbe Diphtheriekultur filtriert nach 7 Tagen ein Kaninchen in 6 Tagen tötete, die in einem Alter von 42 Tagen in gleicher Dosis weit früher letal wirkte. SPRONCKS Diphtherietoxin hatte nach 5—6 Tagen die zehnfache Giftigkeit des 48stündigen. Doch erreicht nach einer gewissen Zeit die Giftigkeit ihr Maximum. Dann beginnt sie, durch Zerfall des gebildeten Toxins, wieder abzunehmen (s. u. »Toxoïde«), so dass alte Kulturen wieder weniger giftig sind. Nach einer ziemlich langen Zeit bleibt dann meist der Giftwert konstant.

Die Art des Nährbodens ist naturgemäß von großem Einfluss auf die Entstehung des Giftes.

Im allgemeinen werden Bouillonkulturen verwendet, meist unter Zusatz von etwas Pepton, auch Kulturen auf Fleischextrakten, auf Hefeextrakten u. s. w. werden vielfach benutzt.

Agar und andere Nährböden sind kaum mit Nutzen anwendbar. Interessant sind die Versuche, auf eiweißfreien Nährböden Toxine zu erzielen, so auf Asparaginlösung mit geeigneten Salzen (ARMAND & CHARRIN[4]), auf dialysiertem Harn); doch sind zufriedenstellende Resultate bisher damit nicht erzielt (GUINOCHET[5]), USCHINSKY[6]). ZINNO[7]) erklärt die scheinbar erfolgreichen Versuche, auf solchen eiweißfreien Nährböden

---

[1]) BUCHNER, Die Bedeutung der aktiven löslichen Zellprodukte etc. Münch. med. Woch., 1897, 12.

[2]) SPRONCK, Prépar. de la tox. dipht. Ann. Pasteur, XII, 701, 1898.

[3]) ROUX & YERSIN, Contribution à l'étude de la diphthérie. Ibid., III, 273, 1889; IV, 385, 1890.

[4]) ARMAND & CHARRIN, Transformation de la matière organiqne azoté etc. Bull. méd., 1891, 356; 1892, 957; ref. Centralbl. f. Bakt. XI, 248 (1892); s. a. BUCHNER, Bakteriengifte und Gegengifte, Münch. med. Woch., 1893, 449.

[5]) GUINOCHET, Contrib. à l'étude de la toxine du bacille de la diphthérie. Arch. d. méd. expérim., 1892, 487.

[6]) USCHINSKY, Les poisons de la diphthérie et dn choléra. Ibd., 1893, 293.

[7]) ZINNO, Beitr. z. Stud. d. Entstehung der Toxine. C. f. Bakt., 31, 42 (1902).

Toxine zu erzielen, damit, dass schon sehr geringe Mengen Eiweiß ausreichen, um nachweisbare Giftmengen zu produzieren. Thatsächlich sind die so erhaltenen Toxinmengen äußerst gering. Er selbst folgert aus seinen Versuchen, dass geringe Mengen Eiweiß unumgänglich notwendig sind.

Im allgemeinen ist gerade dieser Faktor je nach der Art des Toxins so verschieden, dass wir hier auf den speziellen Teil verweisen müssen, wo die verschiedenen Kulturmedien, die man zur Gewinnung möglichst großer Toxinmengen benutzt hat, ausführlich gewürdigt werden sollen.

Hier wollen wir nur kurz darauf hindeuten, dass eine zu große Acidität wie eine zu große Alkalinität des Mediums durchaus vermieden werden muss, und dass ganz im allgemeinen dieselben Bedingungen in Bezug auf Temperatur u. s. w. festgehalten werden müssen, die bei der Züchtung möglichst lebenskräftiger und virulenter Bakterien üblich sind.

Ein Punkt ist aber hier noch von besonderem Interesse. Es geht nämlich durchaus nicht die Erzielung eines sehr lebhaften Wachstums und die einer sehr hochgradigen Virulenz der Bakterien stets parallel mit der Gewinnung sehr energisch toxischer Kulturen.

Einerseits scheint nämlich an sich die Giftproduktion der Bakterien nicht eine direkte Funktion einer lebhaften Vermehrung oder eines hohen Virulenzgrades zu sein. Giebt es doch bei der Diphtherie sogar sehr energisch wachsende Stämme, die völlig atoxisch und avirulent sind (LUBOWSKI[1]).

Auch bei den pflanzlichen und tierischen Toxinen hängt die Giftproduktion von den mannigfachsten physiologischen Bedingungen, dem Alter, der Ernährung u. s. w. ab, worauf wir im speziellen Teil des näheren eingehen werden.

Andererseits aber giebt es zweifellos Mittel, die zwar das Wachstum und event. auch die Virulenz der Bakterien steigern, die Ausbeute an Toxin aber herabsetzen. Dies geschieht dadurch, dass sie das bereits gebildete Toxin teilweise wieder zerstören. Selbst wenn also derartige Mittel zugleich mit der Wachstumsenergie der Bakterien auch ihre Toxinproduktion steigern, so wird doch durch ihre zu energische Anwendung mehr Toxin zerstört als mehr neugebildet wird und das Endresultat ist eine Verminderung der Toxinmenge. Bei derartigen Hilfsmitteln, wie es z. B. die Luftzufuhr bei Diphtheriekulturen ist, kann man also eine Kurve der Toxinmenge konstruieren, deren Abszisse die steigende Anwendung des Mittels, deren Ordinate die schließlich resultierende Toxinmenge darstellt. So lange z. B. die Luftzufuhr die Diphtheriebazillen reichlicher Toxin produzieren lässt, die entgegenlaufende Zerstörung des fertigen Toxins durch den Luftstrom sich in geringeren

---

[1]) LUBOWSKI, Ueber einen atoxischen und avirulenten Diphtheriestamm. Z. f. Hyg., 35, 87 (1900).

Grenzen hält, wird die Kurve steigen; allmählich aber überwiegt der zerstörende Einfluss der Luft den günstigen auf die Produktion: die Kurve sinkt wieder. Dazwischen liegt also ein Maximum der resultierenden Toxinmenge bei einer bestimmten Intensität der Luftzufuhr, dessen Lage natürlich von mannigfachen Bedingungen abhängig ist, wie die Art der Kultur, Nährboden, Temperatur u. s. w. In praxi wird sich dieses Optimum nur schwer realisieren lassen: die Folge sind widersprechende Angaben über Förderung resp. Schädigung durch dieselben Agentien, wie wir später sehen werden.

Aehnlich wie Luftzufuhr mögen auch andere Faktoren wirken; namentlich Erhöhung der Temperatur könnte einerseits die Toxinproduktion, andrerseits aber auch den Toxinzerfall in ganz ähnlicher Weise beeinflussen. Andererseits scheint es thatsächlich eine Reihe von Mitteln zu geben, die die schließliche Ausbeute an Toxin beträchtlich steigern; in diesen Versuchen, durch geeignete Wahl der Nährböden, der Temperatur, durch besondere Zusätze u. s. w. die Toxinmenge zu erhöhen, ist eine beträchtliche Arbeit aufgehäuft; man kann jetzt für die wichtigsten Toxine höchst giftige Kulturen erzielen; doch sind diese Methoden ganz spezieller Natur. Eine prinzipiell für alle Toxine wichtige Methode ist wohl kaum vorhanden, die an dieser Stelle Erwähnung verlangte.

Dagegen soll schon an dieser Stelle kurz darauf hingewiesen werden, dass die Toxinlösungen durchaus nicht immer einen einheitlichen Wert besitzen. Besonders zeigt sich dieser Umstand beim Tetanusgift. Ganz abgesehen davon, dass der Nicolaiersche Bacillus zwei ganz verschiedene Gifte, nämlich neben dem eigentlichen Krampfgift noch das Tetanolysin (s. d.) produziert, so zeigen außerdem einzelne Giftlösungen in Bezug auf ihre spezifische Wirksamkeit sehr große Differenzen. Während das Tetanusgift im allgemeinen für Meerschweinchen beträchtlich toxischer ist als für Kaninchen, giebt es auch einzelne Giftproben, die für Kaninchen ungefähr ebenso giftig (Tizzoni) sind als für Meerschweinchen.

Behring hat für das Tizzonische Gift diese Thatsache bestätigt und auch in eigenen Kulturen Anteile gefunden, die für Kaninchen relativ sehr giftig waren. Man muss also annehmen, dass das Tetanospasmin auch keine einheitliche Substanz darstellt, sondern aus verschieden wirksamen Anteilen besteht. Auch bei Diphtheriegiften kommen ähnliche Verhältnisse vor. Es giebt überneutralisierte Gifte, die für Meerschweinchen absolut indifferent, für Kaninchen noch giftig sind.*)

Sind also nun in den Kulturen der lebenden Mikroben reichliche Toxinmengen vorhanden, so muss es sich darum handeln, die Wirkung der lebenden Zellen auszuschalten, um die Gifte an sich studieren zu

---

*) Näheres s. b. Ehrlich, Münch. med. Woch., 1903, 33.

können. Dazu kann man nun entweder die Bakterien töten, oder man muss versuchen, die Leiber von den Giften ganz zu trennen.

Die erstere Methode, die also die toten Zellen nicht entfernt, kann uns nicht über die Wirkung des Giftes an sich Aufschluss geben, da auch die toten Leiber noch bestimmte chemische und physiologische Wirkungen haben, die das Bild trüben müssen. Glücklicherweise ist für die echten Toxine diese früher angewandte Methode zu entbehren, und thatsächlich völlig außer Gebrauch gekommen.

Es gelingt nämlich, die echten Toxine von ihren Mutterzellen mittelst *Filtration durch bakteriendichte Filter* zu trennen. Hauptsächlich benutzt man dazu Porzellanfilter oder Chamberlandsche Kerzen, auch Infusorienerde und Kalk.

Es geht dabei bei Filtration größerer Mengen das Toxin *restlos* in das Filtrat über; die zurückbleibenden Zellen haben nur noch so viel Giftwert, als der Menge des ihnen mechanisch anhaftenden Toxins entspricht, von dem sie durch Waschen mit physiologischer Kochsalzlösung befreit werden können. In ihren Leibern enthalten sie dagegen kein echtes Toxin mehr, das ihnen etwa durch Zerstörung ihrer Körperlichkeit (Aufquellen in Alkalien) entzogen werden könnte, wie das z. B. H. Kossel[1]) bei Diphtheriebazillen zeigen konnte. Wohl aber können diese toten Leiber noch Gifte ganz anderer Art, *Bakterienproteïne* enthalten, die indessen mit der *spezifischen* Giftwirkung nichts zu thun haben (s. unten).

Die *Phytotoxine* finden sich in den verschiedensten Organen, besonders den Samen, aus denen sie durch Extraktion mit verdünnten Salzlösungen gewonnen werden können.

Die *Zootoxine* finden sich in den Sekreten und im Blute der Tiere vor.

Es folgt aus alledem, dass die *typischen* Toxine *freie Sekrete* sind; Stoffe, die physiologisch von den Zellen in die umgebenden Medien hinein abgeschieden werden. Sie folgen denselben Normen wie die echten Enzyme; in derselben Art, wie die Pankreasdrüsen das *Trypsin*, die drüsigen Zellgebilde der Kleberschicht die *Diastase* absondern, so sondert die Zelle des Diphtherieerregers das Diphtherietoxin ab.

Freilich gilt das mit Sicherheit nur für die typischen Toxine, besonders der Diphtherie und des Tetanus. Bei anderen liegen die Verhältnisse sehr viel unklarer.

Wie wir später sehen werden, ist es z. B. bei Cholera und Typhus überhaupt noch fraglich, ob sie echte Toxine im Sinne unserer Definition bilden. Wenn dies aber der Fall ist, so werden sie sicherlich nicht in beträchtlicher Menge frei sezerniert, sondern haften zum mindesten der lebenden Zelle fest an. Nur beim Zerfall der Zelle nach dem Absterben

[1]) H. Kossel, Zur Kenntnis des Diphtheriegiftes. C. f. Bakt., XIX, 977 (1898).

werden sie in beschränkter Menge frei, ebenso in alternden Kulturen; dabei werden aber die Giftstoffe schon stark verändert, in sekundäre, beständigere Produkte übergeführt, die nicht mehr die Charaktere eines echten Haptines zeigen. Wir werden darauf später zurückkommen.

Ein derartiges Festhaften von aktiven Stoffen in der lebenden Zelle ist ganz analog wie bei gewissen Fermenten[1]). Wir wissen, dass die Hefezelle außer der von ihr in geringer Menge frei sezernierten Diastase noch eine Reihe von anderen Enzymen, Invertase, Maltase u. s. w., enthält, die nur nach Abtötung oder Lähmung des Zellprotoplasmas oder nach Zermalmung ihrer Wand, wie die Zymase, austreten können, und wir wissen ferner, dass die Monilia candida ihre Invertase überhaupt nicht in die umgebenden Medien abgiebt.

Hat man nun durch Filtration der Kulturen oder analoge oberflächliche Manipulationen, Extraktion der Samen u. s. w. Toxinlösungen erhalten, so kann man entweder die Lösung, die mit zahlreichen anderen Substanzen verunreinigt ist, direkt zu physiologischen Versuchen verwenden. Einige ganz rohe Versuche in Bezug auf das Verhalten des Toxins gegen physikalische und chemische Faktoren gestattet außerdem auch dieses Gemisch schon.

Zur bequemeren Aufbewahrung kann man ferner diese Lösung unter Anwendung verschiedener Vorsichtsmaßregeln konzentrieren, ja sogar zur Trockne bringen, ohne das Toxin wesentlich zu schädigen. Die Hauptsache dabei ist Vermeidung von Temperaturen über 45°, weshalb man am besten im Vacuum arbeitet, ferner die Abschwächung etwaiger Säuren oder starker Basen.

Zur genauern Untersuchung der Toxine bedarf es hingegen umständlicher Reinigungsprozesse, um sie möglichst von allen Beimengungen zu befreien. Das einfachste Verfahren ist die Dialyse, die indessen das Toxin nur von den der Lösung beigemengten Salzen und Peptonen befreit, die Eiweißstoffe dagegen nicht absondert. So musste man denn kompliziertere Methoden ersinnen, um eine möglichst weitgehende Isolierung der Toxine zu erzielen. Angewendet werden vor allem die Ausfällung mittelst Ammonium- oder Magnesiumsulfat mit nachfolgender Dialyse und ferner die Ausfällung mittelst Schwermetallsalzen und nachfolgender Zerlegung der entstandenen Doppelverbindungen. Führt die erstere Methode nur zu festen, konzentrierteren, aber auch im entferntesten noch nicht reinen Toxinpräparaten, die praktischen Zwecken nutzbar gemacht werden können, so ist die zweite Methode die einzige, die zu einigermaßen reinen Toxinpräparaten führt. Ihre Details, die besonders von Brieger und seinen Schülern ausgearbeitet sind, werden uns im speziellen Teil näher beschäftigen. Es sind außerordentlich mühselige und große Sorgfalt erheischende Methoden, die im wesentlichen

---

[1]) Oppenheimer, Die Fermente und ihre Wirkungen. II. Aufl., Leipzig, 1903.

auf der Fällung mit Zink-, Blei- oder Quecksilbersalzen beruhen. Es fallen dann Doppelverbindungen der Toxine mit diesen Salzen aus, die nun, sei es durch Schwefelwasserstoff, sei es mit Hilfe von kohlensauren oder phosphorsauren Alkalisalzen, wieder zerlegt werden. Durch Filtration oder Dialyse erhält man dann Lösungen, aus denen durch Eindampfen im Vacuum Präparate gewonnen werden, die im günstigsten Falle an Toxin sehr reich sind. Immer jedoch enthalten sie noch beträchtliche Mengen von Beimengungen, sei es anorganischer (Asche) oder organischer Natur (Eiweißstoffe). Ein reines Toxin ist bis heute gerade so wenig bekannt, wie ein reines Enzym, und es ist auch für die nächste Zukunft kaum zu erwarten, dass seine Gewinnung glücken wird. Selbst von ihren noch nicht reinen, wenn gleich relativ sehr wenig Beimengungen enthaltenden Präparaten erhielten Brieger und Boer so winzige Mengen, dass an eine weitere Reinigung gar nicht gedacht werden konnte. Auch die Versuche, auf eiweißfreien Nährböden zu reinen Toxinen zu gelangen (Uschinsky, l. c.), haben sehr wenig befriedigende Resultate ergeben.

So ist denn über die chemische Natur der Toxine so gut wie nichts bekannt. Gerade wie die Enzyme, mit denen sie ja in engen Beziehungen stehen, hielt man sie zunächst für Eiweißkörper und nannte sie Toxalbumine. Je intensiver man sich indessen bemühte sie zu reinigen, desto mehr kam man zu der Ansicht, dass die Eiweißsubstanzen nur allerdings sehr schwer zu entfernende Beimengungen sind, dass aber die reinen Toxine höchstwahrscheinlich nicht Eiweißkörper im gewöhnlichen Sinne sind. Und Brieger selbst, der den Begriff der Toxalbumine geschaffen hatte, gelang es, Toxinpräparate herzustellen, die die gewöhnlichen Eiweißreaktionen nicht mehr zeigten (s. b. Tetanusgift); ebensowenig gaben die auf eiweißfreien Nährböden erzeugten Toxine diese Reaktionen.

Auch bei anderen Toxinen hat man erfolgreiche Versuche angestellt, um wenigstens die mitgeführten Eiweißstoffe sehr stark zu vermindern. Jacoby[1]) gelang es, durch Trypsinverdauung ein so gut wie eiweißfreies Ricinpräparat herzustellen. Das aktive Prinzip selbst ist gegen dies Verdauungsferment beständig, während dies die mitgeführten Eiweißstoffe spaltet. Da nun diese Spaltprodukte, sowie das Trypsin selbst bei einer Sättigung mit 50proz. Ammonsulfat nicht ausfallen, das Ricin aber bei dieser Konzentration schon ausgesalzen wird, so kann man auf diese Weise aus dem Verdauungsgemisch ein Ricinpräparat gewinnen, das keine Eiweißreaktionen mehr giebt.

Das ist die einzige — negative — Kenntnis, die man von der Konstitution der Toxine hat; sonst muss man sich damit begnügen anzu-

---

[1]) Jacoby, Die chemische Natur des Ricins. Arch. exp. Path., 46, 28 (1901). — Ueber Ricinimmunität. Hofm. Beitr., I, 51 (1901).

nehmen, dass es hochmolekulare Körper sind, den Eiweißstoffen wahrscheinlich verwandt, mit ihnen in gewissen Eigenschaften korrespondierend, besonders nahestehend aber den ebenfalls in ihrer Konstitution noch völlig rätselhaften Fermenten, mit deren Eigenschaften sie in ihren Reaktionen und ihrer Wirksamkeit die weitgehendsten Analogieen zeigen.

Diese Analogieen treten besonders dann ins hellste Licht, wenn man die Beeinflussung der bakteriellen Toxine durch äußere Faktoren mit dem Verhalten der Fermente in gleicher Hinsicht vergleicht. Es ist fast bis in alle Einzelheiten dasselbe Bild.

Besonders charakteristisch für die Toxine ist ihre ungemeine Empfindlichkeit, zumal gegen Erwärmen. In ihrer natürlichen Lösung gehen sie bei Temperaturen von über 50° bald zu Grunde; 80° vernichtet ihre Wirksamkeit sofort, doch schon bei 45° werden sie langsam zerstört. Dabei sind die Unterschiede zwischen den einzelnen Toxinen gering. Trockene Hitze ertragen sie dagegen gut. Feste Präparate können bis über 100° erhitzt werden, ohne Schaden zu erleiden; 150° dagegen scheint auch sie zu vernichten.

Interessant ist, dass sie auch in wasserfreien Flüssigkeiten, z. B. Amylalkohol bis weit über 80° erhitzt werden können, und dass auch manche Salze, wie z. B. Natriumsulfat, ihre Resistenz gegen Erwärmen erhöhen (Buchner[1]).

Tiefe Temperaturen lähmen zwar ihre Wirksamkeit, schädigen sie selbst aber nicht.

Sie sind in geringem Maße durch Pergament diffusibel, nicht aber durch Kollodium (Rodet & Guéchoff[2]) und durch tierische Membranen, wie Oesophagus, Blase, Dickdarm, wohl aber durch Dünndarm (Chassin & Moussu[3]).

Alles dies ist genau wie bei den Fermenten.

Noch empfindlicher als die Fermente sind die Toxine gegen Licht. In wässeriger Lösung wird sowohl Diphtherie- wie Tetanusgift vom Sonnenlicht wie auch vom diffusen Tageslicht sehr bald zerstört. (Tetanusgift nach Kitasato[4]) in 18 Stunden). Trocken oder in Suspension in wasserfreien Flüssigkeiten sind sie unempfindlich gegen Licht.

Auch der elektrische Strom kann den Toxinen schädlich sein, doch sind es nur Gleichströme, während hochgespannte Wechselströme dem Tetanusgift gar nichts schaden (Marmier[5]).

Selbst das bloße Stehenlassen in Lösung, unter allen Kautelen, im Dunkeln, führt zur langsamen Abschwächung der Gifte, die, wenigstens bei der Diphtherie und einigen anderen Giften, in Toxoïde zerfallen (s. u.).

---

1) Buchner, Bakteriengifte und Gegengifte. Münch. med. Woch., 1893, 449.
2) Rodet & Guéchoff, Soc. Biol., 52, 965 (1900).
3) Chassin & Moussu, Influence de la dialyse etc. Soc. Biol., 52, 694 (1900).
4) Kitasato, Exper. Unt. üb. d. Tet. Gift. Zeitschr. f. Hyg., X, 287 (1891).
5) Marmier, Les toxines et l'électricité. Ann. Past., X, 469 (1896).

Bei anderen Giften ist die Existenz von Toxoïden nicht sicher nachgewiesen.

Gegen fast alle chemischen Agentien sind die Toxine sehr empfindlich.

Sauerstoff, auch so verdünnt wie in der Luft, wirkt eminent schädlich. An der Luft, besonders bei gleichzeitiger Belichtung, verlieren die Toxine schnell ihre Giftigkeit, besonders das Tetanospasmin, das schon beim Filtrieren sehr geschwächt wird.

Im allgemeinen sind alle Oxydationsmittel sehr schädlich, auch Wasserstoffsuperoxyd. Sieber[1]) fand, dass Calciumsuperoxyd Diphtherie- und Tetanusgift vollkommen entgiftet (1000 letale Dosen in wenigen Stunden), ebenso Abrin (5000 let. D. durch 0,5 g CaO_2). Er fand ferner die Oxydasen der tierischen Gewebe auf bakterielle Toxine wirksam, auf Abrin aber nicht. Auch bei gleichzeitiger Injektion von Oxydase und Toxin blieb das Versuchstier gesund. Auch eine pflanzliche Oxydase (aus der Schwarzwurzel) erwies sich als wirksam, die Peroxydasen, die nur bei Gegenwart von Hydroperoxyd Guajak bläuen, dagegen nicht. Interessant ist seine Angabe, dass Fibrin aus dem Blute hochimmuner Pferde eine das Diphtheriegift zerstörende Oxydase enthalten soll, gewöhnliches Fibrin nicht. Ob das nicht eher noch anhaftendes Antitoxin gewesen ist, lässt sich dabei aber nicht ausschließen.

Ueber die Wirkung anderer chemischer Stoffe ist einiges wenige bekannt. Starke Basen und Säuren wirken natürlich vernichtend, schwache Basen schädlich, sehr schwache Säuren, besonders die organischen, wahrscheinlich fördernd. Ueber den Einfluss von Neutralsalzen und zahlreichen anderen Stoffen speziell auf Tetanusgift haben Fermi & Pernossi[2]) Untersuchungen angestellt. Sie wirken bald im guten, bald im schlechten Sinne auf die Toxizität.

Indifferente Gase, wie CO_2, H, CO, sind ohne Einfluss. Nur vom H_2S beobachtete Brieger[3]) eine schädigende Einwirkung auf Tetanustoxin, wenn er es 4 Tage damit im verschlossenen Rohr digerierte.

Protoplasmagifte, wie Karbol, Chloroform u. s. w. sind ohne wesentlich schädigende Bedeutung. Alkohol ist sehr schädlich. Nach Salkowski[4]) ist besonders Salicylaldehyd ein energisch schädigendes Mittel, ferner aber auch Chloroform und Formalin.

Jod und Schwefelkohlenstoff haben wahrscheinlich eine ganz be-

---

1) Sieber, Ueber die Entgiftung der Toxine durch die Superoxyde. Z. physiol. Ch., 32, 573 (1901).

2) Fermi & Pernossi, Ueber das Tetanusgift. Zeitschr. f. Hyg., XVI, 385 (1894).

3) Brieger, Weitere Erfahrungen über Bakteriengifte. Ebd., XIX, 111 (1895).

4) Salkowski, Ueber die Wirkung der Antiseptica auf Toxine. Berl. klin. Woch., 1898, 545 (Nr. 25).

sondere Wirkung, insofern sie nur die toxophore Gruppe anzugreifen und zur Toxoïdbildung zu führen scheinen (EHRLICH[1]); ähnlich scheint Thymusextrakt zu wirken (BRIEGER, KITASATO & WASSERMANN[2]).

Schicksale der Toxine im Organismus.

Nach Einführung von Toxinen in die Blutbahn empfänglicher Tiere verschwinden sie ziemlich schnell. Nach kurzer Zeit ist das Blut einerseits völlig toxinfrei, wie die Versuche von BOMSTEIN, CROLY, BRUNNER am Diphtheriegift (s. d.) darthun, und andererseits ist das Gift bereits irgendwo fest gebunden, im Latenzstadium seiner Wirkung, wie die Arbeiten von DÖNITZ[3]) u. a. beweisen. DÖNITZ konnte vergiftete Tiere schon nach wenigen Minuten durch Antitoxininjektionen nicht mehr retten, da das Gift dem Gegengift nicht mehr frei gegenübertrat. Nur durch sehr große Dosen lässt sich noch binnen einer gewissen Zeit die Bindung Toxin-Körperzelle zerreißen, die also latent bereits vorhandene Intoxikation heilen; doch hat auch dies eine zeitliche Grenze; besonders beim Tetanus können nach Ablauf einer bestimmten Frist selbst ungeheuere Dosen Antitoxin nicht mehr retten. Hierin liegt eine der Ursachen für die mangelhaften therapeutischen Erfolge in der Heilserumtherapie des Tetanus. Nach den neueren Ansichten über den Tetanus kann das Antitoxin dem Toxin nicht in die Nervenbahnen hinein folgen. (Näh. s. b. Tetanus.)

Das Toxin als solches entzieht sich im Körper den Nachforschungen, wenn man geringe Dosen einführt. Injiziert man empfänglichen Tieren eine einfach letale Dosis oder ein geringes Multiplum dieser Menge, so verschwindet das Gift rasch aus dem Blute und lässt sich auch in den Organen mittelst des Tierversuches nicht mehr nachweisen[4]). Das Gift ist dann also an die spezifisch empfänglichen Organe fest gebunden. Auch durch den Harn wird es nicht ausgeschieden (GOLDBERG[5]).

Bei sehr großen Dosen dauert das Verschwinden einige Zeit, es kann dann auch im Harn auftreten[6]). Es ist dies auch ganz erklärlich; auf so plötzliche Ueberschwemmung mit gewaltigen Giftmengen sind die Rezeptoren nicht eingerichtet, so dass dann auch ein kleiner Teil des

---

[1]) EHRLICH, Die Wertbemessung des Diphterieheilserums. Klin. Jahrbuch, VI.

[2]) BRIEGER, KITASATO & WASSERMANN, Immunität u. Giftfestigung. Z. f. Hyg., XII, 137 (1892).

[3]) DÖNITZ, Ueber das Tetanusantitoxin. Deutsche med. Wochenschr., 1897, 428.

[4]) Die Angabe von SALTER, The elimination of bacterial toxins, Lancet, 1898, I, 152, dass Toxine in den Schweiß übergehen sollen, ist wohl nicht genügend gestützt.

[5]) GOLDBERG, Ueber Ausscheidung des Tetanusgiftes durch die Nierensekretion. Centralbl. f. Bakt., 26. 547 (1899), vergl. aber COBBETT, Excretion of Dipht. Tox. in the urine, Brit. med. journ., 1900, I, 21, der es im Harn aufgefunden hat.

[6]) S. bes. BRUNNER, Z. Kenntnis d. Tetanusgiftes. Zeitschr. f. klin. Med., 31, 367 (1897) (Litteratur).

Toxins die Nierenbarriere durchbricht und im Harn erscheint. Die Thatsache des Verschwindens des Toxins gab einen der Gründe für die Aufstellung der sog. »Fermenttheorie« des Tetanus ab: Das echte Toxin soll erst sekundär im Organismus ein anderes Gift abspalten, auf das die Antikörper nicht mehr reagieren (darum soll der Tetanus nach der Vergiftung nicht heilbar sein [s. o.]), und das ohne Inkubationszeit schnell, alkaloïdähnlich, wie Strychnin wirken soll. COURMONT[1]) u. a. wollen bisweilen ein solches Gift in den Organen von Tetanusleichen gefunden haben. Wir werden an geeigneter Stelle diese Theorie eingehend prüfen und zu zeigen versuchen, dass sie zum mindesten überflüssig ist; das Verschwinden der Toxine einerseits und die Nichtheilbarkeit andererseits folgen ohne Hilfshypothesen aus der Seitenkettentheorie ganz ohne Zwang.

Dies gilt aber alles nur für die giftempfindlichen Tiere. Wesentlich anders gestaltet sich das Schicksal der Toxine, wenn sie in die Blutbahn refraktärer, von Natur immuner Tiere gelangen.

Die natürliche Immunität ist eine durchaus noch nicht in allen Einzelheiten aufgeklärte Frage. Sie ist aber sicherlich ein außerordentlich komplexes Phänomen, gründlich verschieden besonders sind ihre Erscheinungsformen und ihre Ursachen in Bezug auf die natürliche Immunität gegen Gifte einerseits und gegen lebende Bakterien andererseits. Bei den Toxinen kommt nur die natürliche antitoxische Immunität in Frage.

Diese kann a priori zwei Ursachen haben. Entweder finden sich im Körper des natürlich immunen Tieres Gegengifte, die das eingedrungene Gift paralysieren, oder die Zellen des Tieres sind gegen das Gift immun: es ist für sie ein völlig indifferenter Stoff.

Beides kommt vor; wir werden später sehen, dass normale Sera, speziell Pferdeserum, Antitoxine enthalten, die gegen kleine Toxindosen schützen; interessant ist vor allem, dass nach WASSERMANN[2]) ca. 80 bis 85% aller Menschen nicht unbedeutende Mengen Antitoxin gegen Diphtheriegift in ihrem Serum enthalten. Jedoch sind diese Thatsachen nicht allein geeignet, die natürliche antitoxische Immunität zu erklären, denn solche Antitoxine finden sich ausschließlich in den Seris empfänglicher Lebewesen. Dagegen enthalten gerade die normalen Sera der refraktären Tiere keine Spur von Antitoxinen.

Diese Thatsache war schwer verständlich, bis es EHRLICH gelang, sie durch seine Seitenkettentheorie nicht nur zu erklären, sondern sie geradezu zu einer der festesten Stützen seiner Anschauung zu machen. Wo keine passenden Rezeptoren (empfindliche Gruppen in den Körper-

---

1) S. dar. v. LEYDEN-BLUMENTHAL, Der Tetanus. Nothnagels Handb., Wien 1901.

2) WASSERMANN, Ueber die persönliche Disposition u. Prophylaxe gegen Diphtherie. Z. f. Hyg., XIX, 408 (1895).

zellen) sind, kann kein Toxin angreifen; es besteht also Giftfestigkeit; ebensowenig kann aber in solchen Fällen eine Abspaltung von Seitenketten, eine Antitoxinbildung eintreten. Das Blut absolut refraktärer Tiere darf also nach dieser Anschauung keine Antitoxine enthalten.

Interessant aber ist die Frage, wie sich in solchem Organismus die in die Blutbahn eingeführten Toxine verhalten. Es war durchaus möglich, dass diese leicht zersetzlichen, so außerordentlich empfindlichen Substanzen in der Blutbahn schnell zerstört werden könnten, auch ohne ihre schädlichen Wirkungen ausgeübt zu haben, oder dass sie sehr schnell durch die Exkrete wieder aus dem Körper herausgeschafft werden würden.

Beides ist nicht der Fall. Wir finden das sonderbare Schauspiel, dass diese so äußerst aktiven Substanzen, die unter günstigen Bedingungen Wirkungen von geradezu staunenerregender Energie entfalten, im Blute der refraktären Tiere wie die harmlosesten, indifferentesten chemischen Stoffe relativ lange Zeit unverändert bleiben, bis sie schließlich langsam in den Stoffwechsel hineingezogen und allmählich restlos verbrannt werden.

Es geht daraus hervor, dass bei diesen Tieren die Avidität zwischen Gift und Körperzelle eine viel geringere sein muss, als bei empfänglichen. Zwischen empfänglichen und refraktären Tieren herrscht aber kein absoluter Unterschied, sondern nur ein gradueller; die Avidität der Körperzellen (Rezeptoren) nimmt allmählich ab vom hochempfänglichen bis zum äußerst wenig empfänglichen Tier. So kreist bei der Taube das Tetanusgift in einer für Mäuse vielhundertfach tödlichen Dosis unverändert im Blute. Giebt man aber noch höhere Dosen, so erkrankt die Taube. Es liegt hier also keine völlige Immunität vor, sondern nur eine sehr geringe Avidität der Rezeptoren. Noch geringere Avidität besitzen nach METSCHNIKOFF[1]) und FERMI & PERNOSSI (l. c.) einige poikilotherme Tiere.

METSCHNIKOFF fand, dass bei Fischen, Schildkröten, Alligatoren sowie Arthropoden sich das Toxin unverändert im Blut erhält, ohne Antitoxin zu erzeugen; nur bei Alligatoren erhielt er nach langer Einwirkung (58 Tage) etwas Antitoxin, ebenso bei alten Kaimans, bei denen er durch Erwärmen der Tiere auf 30° diese Antitoxinbildung in wenigen Tagen erzielen konnte.

Irgend welche Krankheitserscheinungen konnte er dabei nicht beobachten. Ganz ähnliche Verhältnisse fanden FERMI & PERNOSSI bei Schlangen, Tritonen und Turteltauben.

METSCHNIKOFF fand auch bei Skorpionen, bei denen weder Vergiftung noch Antitoxinbildung eintrat, das Tetanustoxin noch nach einem Monat in der Leber wirksam wieder.

[1]) METSCHNIKOFF, Influence de l'organisme sur les toxines. Ann. Past., XI, 1897, 801; XII, 1898, 81. — Ders., Immunität, deutsch v. Meyer, Jena 1902, S. 264.

Mit besonderem Eifer hat man das Huhn als Versuchstier für Tetanusgift benutzt, weil es zwar sehr widerstandsfähig, aber doch nicht völlig refraktär gegen Tetanus ist. METSCHNIKOFF giebt an, dass man bei Hühnern das Toxin im Blut und den Ovarien wiederfinden kann, und dass sich später geringe Antitoxinmengen zeigen; ASAKAWA[1]) fand, dass Hühnerblut das eingeführte Toxin bis zum 7. Tage fast unvermindert aufbewahrt, und dass es dann langsam verschwindet, ohne ausgeschieden zu werden.

ASAKAWA fand im Hühnergehirn und Rückenmark gar kein Toxin, während er es sonst in allen Geweben fand; das liegt wohl vor allem daran, dass in den anderen Geweben das darin enthaltene Blut Toxingehalt vortäuschte, während im Zentralnervensystem nur wenig Blut vorhanden ist; andererseits ist es aber auch sehr wahrscheinlich, dass geringe Toxinmengen doch dort durch Bindung an einzelne Rezeptoren verschwinden; denn absolut refraktär ist eben das Huhn gegen Tetanus nicht; und man kann auch geringe antitoxische Wirkung des Hühnergehirnbreies u. s. w. konstatieren. Dafür spricht auch, dass das Huhn bei direkter intercerebraler Einführung von Tetanusgift an Tetanus erkrankt.

Nach der Anschauung von EHRLICH und WASSERMANN ist also die mangelnde Avidität zwischen Toxin und Körperzelle (Receptor) die Hauptursache der natürlichen antitoxischen Immunität. Wo das Gift frei kreist und von den Rezeptoren gar nicht oder nur in geringen Mengen gebunden wird, kann die toxophore Gruppe nicht energisch in Wirksamkeit treten; eine schwere Schädigung bleibt also aus.

Indessen ist auch die mangelnde Avidität nicht immer der Grund der natürlichen Immunität. So fand MORGENROTH[2]) beim Frosch, dass das Tetanusgift schon in der Kälte fest gebunden ist, ohne dass das Tier erkrankt; hier ist also die toxophore Gruppe unwirksam; ihre Wirkung tritt aber sofort hervor, sobald man den Frosch auf ca. 30° erwärmt.

Diese Anschauungen über die Avidität des Giftes zur lebenden Zelle und die spezifische Bindung werden gestützt durch experimentelle Befunde. WASSERMANN[3]) fand, dass frische Zentralnervensystemsubstanz empfänglicher Tiere beträchtliche Mengen Tetanusgift bindet. Uebereinstimmend damit fanden METSCHNIKOFF und ASAKAWA, dass das Gehirn u. s. w. wenig empfänglicher Tiere wenig bindet, um so weniger, je weniger empfänglich das Tier ist. So bindet Hühnergehirn schwach,

---

[1]) ASAKAWA, Die Basis der natürl. Immun. des Huhnes gegen Tetanus. Centralbl. f. Bakt., 24, 166 (1898).

[2]) MORGENROTH, Zur Kenntnis des Tetanus des Frosches. Arch. internat. d. Pharmacodyn., VII, 265 (1900). S. A.

[3]) WASSERMANN & TAKAKI, Ueber tetanusantitoxische Eigenschaften des Centralnervensystems. Berl. klin. Wochenschr., 1898, S. 5. — WASSERMANN, Weitere Mitteil. über Seitenkettenimmunität, ebd., 1898, 209.

Schildkrötengehirn gar nicht. Eine weitere Unterstützung dieser Anschauung liefern Versuche, die darthun, dass bei denjenigen Tieren, bei denen sich das Tetanusgift intra vitam auch an Rezeptoren bindet, die nicht an Zellen des Zentralnervensystems haften, wie z. B. bei Kaninchen, auch die Emulsionen anderer Organe, z. B. der Milz, Tetanusgift binden. (Wassermann.)

Es ist überhaupt nicht generell der Fall, dass sich Rezeptoren nur in den Organen finden, in denen das Gift seine deletären Wirkungen entfaltet. Es ist häufig, dass auch in anderen Organen Bindung und Antitoxinbildung statthat, wo das Toxin wenig schädigend wirkt. Giftwirkung und Antikörperbildung sind zwei verschiedene Prozesse, die unter Umständen auch räumlich getrennt verlaufen können.

Schicksale der Toxine im Digestionstractus.

Besonderes Interesse bot die Frage, was aus den Toxinen wird, wenn sie vom Magen oder Darmkanal aus eingeführt werden. Alle Beobachter sind darin einig, dass alle Toxine, auch Schlangengift u. s. w., mit alleiniger Ausnahme des Ricins, vom Magen aus überhaupt unwirksam sind. Dass diese Toxine auch vom Mastdarm aus nicht wirken, zeigte Gibier[1]). Charrin & Cassin[2]) gaben an, dass vom Darm aus Toxine resorbiert werden, wenn die Schleimhaut lädiert wird.

Nencki & Schoumow-Simanowski[3]) fanden, dass selbst große Dosen von keinem Teil des Verdauungstractus aus resorbiert werden, dass nur bei ungeheueren, mehr als 100000fach letalen Dosen schließlich Vergiftungserscheinungen auftreten.

Im großen und ganzen werden also Toxine vom normalen Intestinaltractus aus nicht resorbiert. Sie müssen also entweder unverändert passieren und sich im Kote wiederfinden, oder sie werden restlos zerstört. Das erstere nahm für Tetanus Ransom[4]) an, doch haben alle Nachuntersucher, besonders Nencki & Schoumow-Simanowski (l. c.) und Carrière[5]) selbst bei sehr großen Gaben (100000fach letale Dosis) keine Spur im Kote wiederfinden können, ebensowenig fand Carrière irgend welche antitoxische Funktion des Serums nach Einführung des

---

[1]) Gibier, Effets produits par l. toxines etc. injectées dans le rectum. Sem. méd., 1896, 202. (Ref.)

[2]) Charrin & Cassin, Fonctions protectrices actives de la muqueuse intestinale. Ibid., 1895, 545.

[3]) Nencki & Schoumow-Simanowski, Die Entgiftung der Toxine durch die Verdauungssäfte. Centralbl. f. Bakt., 23, 840 (1898).

[4]) Ransom, Das Schicksal des Tet. Giftes nach seiner intestinalen Einverleibung. Deutsche med. Woch., 1898, 117.

[5]) Carrière, Toxines et digestion. Ann. Past., XIII, 435, 1899 (dort Litteraturübersicht). — Ders., Du sort de la toxine tétanique introduit dans le tube digestif. Soc. Biol., 51, 179 (1899).

Toxins per os. Répin[1]) fand zwar Abrin, aber weder Diphtheriegift noch Cobragift in den Faeces wieder.

Es wird also zerstört. Dafür können drei Faktoren in Betracht kommen: Die lebende Darmwand, die Darmbakterien (Fermi & Pernossi) und die Sekrete des Darmes.

Nach den übereinstimmenden Resultaten der an Pawlowschen Hunden ausgeführten Versuche von Nencki (l. c.) und den von Carrière (l. c.) mit Fermentpräparaten angestellten, sind es unzweifelhaft die Verdauungsfermente als solche, die die Toxine entgiften. Carrière fand schon die Speicheldiastase schädlich, Pepsin nicht sehr wirksam, Trypsin schon eher, besonders aber die Galle. Nencki erzielte mit seinen reinen sterilen Fistelsäften folgende Ergebnisse: Pepsin an sich zerstört Bakteriengifte (Abrin nicht). Die Säure ist dabei gleichgiltig, da nach fast völliger Neutralisierung das Resultat das gleiche war, wie auch schon Charrin[2]) [3]) gefunden hatte. Pankreassaft allein zerstört Diphtherietoxin besser als Tetanustoxin. Dieses ist besonders gegen eine Mischung von 3 Teilen Pankreassaft und 1 Teil Galle empfindlich.

Eine Immunisierung durch gleichzeitige Einführung von Galle gelang nicht. Charrin & Levaditi[4]) injizierten Diphtheriegift (100 letale Dosen) in frisch herausgenommenes Pankreas und fanden es nach 22 Stunden völlig zerstört. Muskelplasma oder auf 70° erwärmtes Pankreas waren wirkungslos. Die Darmschleimhaut und die Bakterien des Darmes sind nach Carrière nicht anzuschuldigen.

Auch Baldwin & Levene[5]) fanden, dass Pepsin, Trypsin und Papayotin das Diphtherietoxin zerstören.

Trotzdem nimmt wieder Cano-Brusso[6]) an, dass es doch der Schleimhaut selbst zuzuschreiben ist, dass das Tetanusgift im Darm zerstört wird.

Wirkungsart der Toxine.

Die Toxine wirken, wie oben bereits auseinandergesetzt, vom Verdauungskanal aus absolut nicht. Man muss sie also dem Organismus auf anderen Wegen zuführen. Die gebräuchlichste Methode ist die sub-

---

1) Répin, Sur l'absorption de l'abrine par les muqueuses. Ann. Past., IX, 517 (1895).

2) Charrin, Action des sucs digestifs sur les poisons microbiens. Arch. de phys., 1898, 67.

3) Charrin & Lefèvre, Action de la pepsine sur la toxine dipht. Soc. Biol., 49, 830 (1897), Sem. méd., 1897, 296.

4) Charrin & Levaditi, Action du pancréas sur la toxine dipht. Soc. Biol., 51, 215 (1899).

5) Baldwin & Levene, Einw. proteolyt. Ferm. auf Bakterientoxine. Journ. of med. research., VI, 120; Maly Jb., 1901, 953.

6) Cano-Brusso, Untergang d. Tetanusgiftes im Darm. Maly Jb., 1901, 914.

kutane Injektion, gerade wie bei der Vergiftung mit lebenden Bakterien.

Noch wirksamer sind die Einführungen direkt in die Blutbahn (intravenös) ferner intraperitoneal und intercerebral, resp. subdural, wie man sie namentlich bei Tetanus- und Gonokokkengiften angewendet hat, und die bisweilen angewendete Einspritzung in die Nerven nach Homén.

Die intercerebrale Injektion ist besonders dort von Bedeutung, wo entweder das Gift auf seiner Verbreitung im Körper von Rezeptoren anderer, weniger empfindlicher Organe abgefangen wird (Tetanus des Kaninchens) oder wo die Rezeptoren im Gehirn nicht sehr zahlreich sind, so dass nur konzentriertes Toxin eine schwere Schädigung bedingen kann (Tetanus des Huhnes).

Bei der Wirksamkeit der Toxine sind namentlich zwei Punkte von grundlegender Wichtigkeit: die Spezifizität und die Inkubationszeit.

Die Spezifizität ist eine der hervorstechendsten Eigenschaften der echten Toxine. Zwar findet man auch mehr oder weniger weitgehende Giftfestigkeit gegen krystalloïde Gifte: bekannt sind die relative Unschädlichkeit des Kantharidins für den Igel, des Atropins für Tauben. Doch sind das nur Abschwächungen des Giftwertes, keine absoluten Resistenzen. Die Bakterientoxine aber sind zum Teil völlig unschädlich für refraktäre Tiere, während sie auf empfindliche sehr energische Wirkungen ausüben.

Das Wichtigste aber dabei ist, dass die refraktären Tiere das Gift nicht etwa zerstören, sondern dass es als vollkommen gleichgiltiger Stoff unverändert in ihrem Blute kreist.

So entsteht das paradoxe Phänomen, das wir soeben ausführlich geschildert haben, dass man mit dem Blute eines anscheinend völlig gesunden Huhnes, dem man große Dosen Tetanusgift injiziert hat, Mäuse mit tödlichem Tetanus vergiften kann. Wo eben das Toxin keine passenden Rezeptoren findet, da kann es nicht eingreifen: die toxophore Gruppe tritt gar nicht in Wirksamkeit, infolgedessen ist das Toxin ein vollkommen indifferenter Körper, den der Körper so wenig beachtet, dass er ihn nicht einmal schnell zu zerstören versucht. Auch diese Erscheinung ist wohl aus der Seitenkettentheorie zu erklären; alle Nahrungsstoffe, soweit sie nicht einfach chemisch durch die Säfte und ihre Fermente zerlegt werden, sollen ja nach Ehrlich als Haptine gebunden und so in den Machtbereich der destruktiven und assimilatorischen Kräfte des Protoplasmas gebracht werden. Da aber das Toxin überhaupt nicht gebunden wird, wird es auch gar nicht zerstört, nicht einmal den Nährstoffen gleich behandelt.

Die Spezifizität der echten Toxine fällt völlig mit der der lebenden Bakterien zusammen.

Charakteristisch ist ferner für die meisten bisher bekannten Toxine, dass sie nicht momentan oder nach ganz kurzer Zeit, wie die meisten einfachen kristalloïden Gifte ihre Wirkungen entfalten, sondern dass

ihre Toxizität sich erst nach Ablauf einer bestimmten Zeit, der Inkubationszeit kundgiebt. Auch darin gleichen die Bakterientoxine völlig der Wirksamkeit ihrer lebenden Mutterzellen. Die Inkubationszeit schwankt nicht nur mit der Natur der Toxine, sondern ist auch von anderen Faktoren, der zugeführten Dosis, der Körpertemperatur u. s. w. abhängig. Doch hat die Abhängigkeit speziell von der Dosis eine Grenze; es verhält sich nicht etwa die Inkubationszeit umgekehrt proportional der Toxinmenge; selbst bei vielfach tödlichen Dosen bleibt eine gewisse Inkubationszeit bestehen, die dann durch keine weitere Erhöhung der Dosis mehr verkürzt werden kann. Nach Courmont & Doyon[1]) ist z. B. bei Meerschweinchen die Inkubationszeit für Diphtherietoxin bei der einfachen Dos. let. 15 Stunden, lässt sich aber durch die größten Dosen (90000fach Dos. let.) nicht unter 12 Stunden herabdrücken. Ein sehr interessantes Phänomen ist hierbei, dass man beim Tetanus des Frosches durch Abkühlen die Inkubationszeit beliebig verlängern kann; wenn man einen Frosch nach der Einführung des Giftes dauernd bei 8—10° hält, erkrankt er überhaupt nicht, bei 30° tritt dagegen nach einer bestimmten Zeit der tödliche Tetanus ein; unterbricht man nun das Erwärmen, so kann man den Frosch beliebig lange bei 8° bewahren; bei steigender Temperatur tritt dann nach Ablauf des Restes der Inkubationszeit der Starrkrampf auf (Morgenroth).

Bei einigen anderen Toxinen, besonders beim Schlangengift fehlt diese Inkubationszeit indessen. Sie wirken außerordentlich schnell.

Konstitution der Toxine.

Das Charakteristische für jedes Toxin ist, dass es ein Haptin ist, das heißt eine haptophore und eine toxophore Gruppe enthält.

Die Konstitution der meisten Bakterientoxine ist damit festgestellt; sie sind nach der Ehrlichschen Terminologie einfache Haptine erster Ordnung.

Andere sind aber komplizierter gebaut. So hat das Ricin und das Abrin außer seiner toxischen Eigenschaft noch die weitere Fähigkeit, rote Blutkörperchen zu agglutinieren.

Es bestand nun die Frage, ob diese zweite Eigenschaft etwa einem eigenen, in den gewöhnlichen Ricinpräparaten stets mit vorhandenen aktiven Prinzip zuzuschreiben sei, oder ob das Ricin selbst diese Doppelfähigkeit besitzt. Dass die toxische Eigenschaft von der agglutinierenden trennbar ist, lässt sich u. a. dadurch erweisen, dass Verdauung durch Pepsinsalzsäure die toxische Eigenschaft bald vernichtet, die aggluti-

[1]) Citiert nach Deutsch & Feistmantel, Die Impfstoffe und Sera. Leipzig 1903, S. 40.

nierende aber bestehen lässt (JACOBY[1]), MICHAELIS & OPPENHEIMER[2]), Es war also möglich, dass Ricinustoxin und Ricinusagglutinin geradeso getrennte Substanzen wären, wie Tetanospasmin und Tetanolysin, zwei verschiedene Gifte der Tetanuskulturen.

Während sich aber bei diesen nachweisen ließ, dass sie getrennte Substanzen sind, die in verschiedenen Kulturen in ganz verschiedenem Verhältnis sich vorfinden, und zwei voneinander verschiedene Antikörper geben, stellte sich beim Ricin durch ähnliche Versuche das Gegenteil heraus. Das Toxin wie das Agglutinin besitzen dieselbe haptophore Gruppe, da sie nur ein Antiricin bilden (JACOBY).

Das Ricin hat also eine kompliziertere Struktur. Er hat neben einer haptophoren zwei ergophore Gruppen, eine toxische und eine agglutinierende, ist also ein komplexes Haptin erster Ordnung. (Näheres s. b. Ricin.)

Noch komplizierter und unklarer liegen die Verhältnisse bei anderen Toxinen. Auch hier finden sich sehr häufig außer der toxischen noch andere Wirkungen, besonders hämolytische, so namentlich beim Aalblut und beim Schlangentoxin. Hier ist noch nicht mit Sicherheit entschieden, ob die lytischen Prinzipien eigene Stoffe sind. Doch ist es z. B. beim Schlangengift wahrscheinlich. Und hier entsteht nun die weitere Frage, ob die Lysine wie die Toxine Haptine erster Ordnung sind, d. h. an einem Komplex haptophore und ergophore Gruppen enthalten; oder ob sie sich in ihrer Konstitution nicht mehr den Haptinen zweiter Ordnung nähern, wie es die Hämolysine der normalen und der Immunsera sind. Diese enthalten haptophore und ergophore Gruppen nicht an einem Komplex; sondern sie besitzen einen Amboceptor mit zwei haptophoren Gruppen und ein Komplement, das sich an den mit dem Receptor der Zellen verbundenen Amboceptor an dessen komplementophile Gruppe haftet, und dadurch erst die hämolytische Wirkung herbeiführt.

Die letzten Befunde am Cobrahämolysin weisen darauf hin, dass dieses Gift thatsächlich eine so komplexe Form besitzt, dass es einen Amboceptor hat, der einerseits durch ein in den roten Blutkörperchen selbst sich findendes Endkomplement, andererseits aber auch durch Lecithin komplettiert und wirksam gemacht wird (KYES und SACHS). Wir werden beim Schlangengift darauf zurückkommen.

Physiologische Aktion der Toxine.

Zwar zeigen die Bakterientoxine vor allem ihre spezifischen Wirkungen auf den Organismus, die wir im speziellen Teil genauer zu be-

---

[1]) JACOBY, Ueb. Ricinimmunität. Hofm. Beitr. z. chem. Physiol., I, 57 (1901).

[2]) MICHAELIS & OPPENHEIMER, Ueb. Immunität geg. Eiweißkörper. Engelmanns Arch., 1902, Suppl.-H.

handeln haben werden, doch sind ihnen auch einige Allgemeinreaktionen gemeinsam, die wir wenigstens kurz erwähnen wollen.

Sie wirken vor allem auf das Allgemeinbefinden, indem sie Schwäche, Prostation und schließlich Kollaps hervorrufen. Diesen Erscheinungen liegt wohl hauptsächlich eine deletäre Wirkung auf die Herzaktion zu Grunde, die sich in Sinken des Blutdruckes, verbunden häufig mit einer Verminderung der Schlagfolge und schließlich Lähmung des Herzens äußert. Doch sind die Herzwirkungen bei den einzelnen Toxinen nach der vergleichenden Untersuchung von BARDIER[1]) verschieden.

Eine fast regelmäßige Erscheinung ist eine Hypothermie, mit oder ohne vorhergehendes Fieber.

In der Haut und dem Unterhautzellgewebe erzeugen sie bei subkutaner Injektion vielfach Infiltrationen, Abszesse und Nekrosen. Ausfall der Haare wird häufig beobachtet.

Auch innere Organe, zum Beispiel der Darmtractus wird meist geschädigt (Durchfälle u. s. w.)

Auch die Leber bleibt nicht unbeteiligt, wie speziell TEISSIER & GUINARD[2]) genauer untersucht haben. CLAUDE[3]) hat Blutungen der Gallenblase beobachtet. Nach PADOA[4]) wirkt die Leber verschieden auf die Toxine. Während sie Diphtherietoxin bindet, so dass es bei Einführung in die Pfortader weniger giftig ist, lässt sie Typhustoxin passieren; dies soll sogar auf diesem Wege noch giftiger wirken, als subkutan oder intravenös. Ebenso findet man degenerative Veränderungen an den Nieren.

Veränderungen des Blutes (Hämoglobinämie) und der Gefäße sind ebenfalls häufig. Viele Toxine scheinen blutkörperchenlösend zu wirken. Nach KARFUNKEL[5]) setzen sie die Blutalkaleszenz herab, doch lässt sich durch künstliche Ueberhitzung diese Wirkung teilweise paralysieren. Schließlich wird noch meist das Nervensystem, besonders das Zentralorgan angegriffen, jedoch in recht verschiedener Weise; darauf werden wir im speziellen Teil ausführlicher zurückkommen.

Eine eigentümliche Wirkung des Diphtherotoxins will CONSIGLIO[6]) beobachtet haben. Er fand, dass es die Gärungsprozesse in kleinen Dosen fördert, in größeren hemmt, dass es andererseits aber stets einen sehr ungünstigen Einfluss auf Keimungsprozesse der Samen ausübt.

---

[1]) BARDIER, Toxine et cœur. Soc. Biol., 49, 311 (1897).

[2]) TEISSIER & GUINARD, Effets des toxines microbiennes. Arch. méd. expér., IX, 994 (1897).

[3]) CLAUDE, Deux cas d'hémorrhagie de la vésic. biliaire etc. Soc. Biol., 1896, 169; Sem. méd., 1896, 62.

[4]) PADOA, Ueb. d. verschied. Wirkung. des Diphtherie- u. Typhustoxins. Riform. med., 1899, Nr. 26; Malys Jb., 1899, 921.

[5]) KARFUNKEL, Schwankungen des Blutalkaleszenzgehaltes nach Einverleibung von Toxinen u. s. w. Zeitschr. f. Hyg., 32, 149 (1899).

[6]) CONSIGLIO, Azione di alcune tossine etc. Arch. di Farm., VI, Nr. 3 (1898). Malys Jb., 1898, 634.

Toxoïde und Toxone.

Nach der Seitenkettentheorie müssen wir die Toxine ansehen als Körper, die zwei sterisch bestimmte Gruppen enthalten; die haptophore Gruppe und die toxophore Gruppe. Wenn wir uns nun vorstellen dürfen, dass unter gewissen Umständen die toxophore Gruppe so verändert wird, dass ihre charakteristische Wirkungsenergie verloren geht, die haptophore dagegen ungeändert bleibt, so würden Stoffe resultieren, die zwar noch die Fähigkeit haben, sich an Rezeptoren, seien es freie (Antitoxine) oder gebundene (Körperzellen) zu binden, ohne aber giftig zu sein. Solche Stoffe hat nun Ehrlich beim Diphtherietoxin genauer untersucht und ihre große Bedeutung für den toxischen Wert der Giftlösungen und die Einstellung der Heilsera festgestellt, worauf wir im nächsten Kapitel ausführlich eingehen werden. Diese »Toxoïde« sind also ungiftige, aber sich noch spezifisch bindende Haptine. Sind sie sekundäre Umwandlungsprodukte der echten Toxine, so bezeichnet man sie als Toxoïde im engeren Sinne; es giebt aber auch primäre Bakterienprodukte, die dieselbe haptophore Gruppe binden können wie das Toxin, die aber eine andere, sehr viel schwächer wirkende toxophore Gruppe besitzen, geringe Wirkungen eigener Art auslösen, wie sie Ehrlich und Madsen bei der Diphtherie festgestellt haben; man bezeichnet diese primären Stoffe, die also ein zweites Sekretionsprodukt der Bakterien darstellen, als Toxone.

Die Toxone sind nicht ganz ungiftig, sie erzeugen vielmehr späte Lähmungen u. s. w., kurz Vergiftungserscheinungen, die qualitativ von der Wirkung kleiner Toxinmengen durchaus verschieden sind.

Toxoïde sind mit Sicherheit bekannt von der Diphtherie (Ehrlich) vom Tetanolysin (s. d.) (Madsen) und vom Staphylotoxin (Neisser & Wechsberg, s. d.), für das Ricin von Jacoby (l. c.) sehr wahrscheinlich gemacht.

Indessen spricht doch sehr vieles dafür, dass auch die anderen Bakteriengifte zum Teil die Fähigkeit der sekundären Toxoïdbildung haben, z. B. Tetanus, worauf wir im speziellen Teil zurückkommen werden.

Irgend welche näheren Kenntnisse über die Toxoïde und Toxone besitzen wir nicht. Da sie auch spezifische Haptine sind, erzeugen sie auch Antitoxine, wie Madsen & Dreyer[1]) an den Diphtherietoxonen zeigen konnten.

Madsen & Dreyer konnten auch zeigen, dass es Toxone giebt, die für Meerschweinchen indifferent, für Kaninchen noch giftig sind.

---

[1]) Madsen & Dreyer, Ueb. Immun. mit den Toxonen d. Diphtheriegiftes. Z. f. Hyg., 37, 249 (1901).

Ein Gift war bei $\frac{200}{200}$ Sättigung für Meerschweinchen neutral, für Kaninchen erst bei $\frac{240}{200}$. EHRLICH hat diese Giftabarten als Toxonoïde bezeichnet.

Allgemeines über Antitoxine.

Ueber die Antitoxine sind unsere positiven Kenntnisse noch geringer wie über die Toxine.

Sie finden sich in den Körperflüssigkeiten, besonders im Blutserum und der Milch immunisierter Tiere. Geringere Mengen finden sich auch sehr häufig in normalen Seris, namentlich Diphtherieantitoxin beim Pferde (bei ca. 30 %). Auch andere Antikörper sind in den normalen Seris ja sehr häufig, besonders auch Antifermente u. s. w. Aus den Körperflüssigkeiten können sie mit Hilfe ähnlicher Fällungsmethoden wie die Toxine konzentriert werden.

Ausfällen mit Alaun und Ammoniak (ARONSON), Magnesiumsulfat (TIZZONI) und mit festem Chlornatrium und Chlorkalium (BRIEGER und BOER) liefern nach Reinigung feste Antitoxinpräparate.

Die Natur der Antitoxine ist unbekannt; dass sie Eiweißstoffe sind, ist zwar wahrscheinlich, aber nicht sicher entschieden. Dagegen spricht ihre beträchtliche Resistenz gegen Trypsin, während sie gegen Pepsinsalzsäure empfindlich sind. Versuche, das Diphtherieantitoxin als Eiweißkörper näher zu charakterisieren, resp. festzustellen, mit welchem Eiweißanteil des Blutes es zusammenhängt haben noch zu keinem abschließenden Resultat geführt.

Sie sind auch empfindlich, wie die Toxine, gegen Erwärmen, gegen Säuren u. s. w., besitzen aber doch im allgemeinen eine weitaus größere Resistenz (s. b. Diphtherie). CAMUS[1]) konnte Antischlangengift und Antidiphteriegift $1/2$ h auf 120° und $1/4$ h auf 140° ohne Schaden erhitzen, wenn sie bei niederer Temperatur getrocknet und dann erst bei 100° im Luftstrom erwärmt waren.

Die Antitoxine sind nach EHRLICH normale Zellenbestandteile, losgerissene Rezeptoren, und als solche physiologisch und chemisch ziemlich inaktiv. Sie werden durchaus nicht immer in den Organen gebildet, wo das Gift seine spezifische Wirkung entfaltet, sondern auch aus anderen Zellgruppen. Besonders scheint dies beim Tetanus des Kaninchens der Fall zu sein (s. dort). Sie werden unter dem Reiz der haptophoren Gruppe sezerniert. EHRLICH fasst sie als „einfache Unizeptoren" auf, d. h. als Stoffe mit nur einer haptophoren Gruppe, die der entsprechenden des Toxins konform ist. Nichts ist also ver-

---

1) CAMUS, Resistance aux tempér. élevée des vaccins dessêchés. Soc. Biol., 50, 235 (1898).

kehrter, als auch den Antitoxinen eine Aktivität zuzuschreiben, wie den Toxinen, sie etwa auch als »fermentähnliche Stoffe« hinzustellen. Es ist dies eine gedankenlose Uebertragung von den Toxinen her, für die jede greifbare Unterlage fehlt, und die nur geeignet wäre, der Anschauung zu schaden, dass die Toxine den Fermenten nahestehen. Die Toxine, wahrscheinlich auch einige Fermente haben eine haptophore und mindestens eine „ergophore" Gruppe, sie können nicht nur binden, sondern auch angreifen; letzteres ist den Antitoxinen nicht verliehen; sie können nur binden und dadurch die toxophore Gruppe von der bedrohten Zelle fernhalten, nicht aber sie schädigen. Deuten doch Versuche von Wassermann beim Pyocyaneus und von Calmette beim Schlangengift darauf hin, dass in dem Toxin-Antitoxingemisch das Toxin intakt bleibt, und nach einer Zerstörung des Antitoxins die Giftwirkung wieder manifest wird (s. u.). Die Antitoxine sind also keine aktiven Stoffe, keine «Fermente». Die Antitoxine sind also als solche physiologisch völlig neutral, sie können keine toxischen Wirkungen auslösen.

Dies gilt aber natürlich nur für die Antitoxine an sich, nicht für die Sera, in denen sie enthalten sind. Man kann zwar einem Pferde unbegrenzte Mengen antitoxinhaltigen Pferdeserums injizieren, ohne irgend welche Nebenwirkungen. Dagegen sind körperfremde Eiweißstoffe stets in gewissem Sinne toxisch; sie erzeugen ja auch Abwehrstoffe, die von Myers u. s. w. beschriebenen Präzipitine.[1]) Es ist also einleuchtend, dass man durchaus nicht einer anderen Tierspecies unbegrenzte Mengen Pferdeserums injizieren darf. Man hat ja auch thatsächlich mehrfach beim Diphtherieheilserum solche Störungen beobachtet (s. dort). Nur ist dafür nicht das Antitoxin an sich, sondern vielmehr das Serum verantwortlich zu machen.

Zweifellos hängt mit dem Bestreben des Organismus, fremde Eiweißstoffe zu eliminieren, auch die Beobachtung von Knorr[2]) zusammen, dass Antitoxine, die mit körperfremden Seris injiziert werden, sehr bald verschwinden, während Antitoxine in Seris gleicher Species eingeführt, sich sehr lange im Organismus erhalten.

Verhalten der Toxine zu den Antitoxinen.

Wir haben schon in der Einleitung es als eine zur Begriffsbestimmung des Toxins ganz wesentliche Eigenschaft desselben hingestellt, dass die echten Toxine im Körper des angegriffenen Wesens ein spezifisches

---

[1]) Näheres üb. Präzipitine u. Litteratur s. b. Michaelis & Oppenheimer, Ueb. Immunität geg. Eiweißkörper. Engelmanns Arch., 1902. Suppl.-H.

[2]) Knorr. Das Tetanusgift u. s. Bezieh. zum tier. Organismus. Münch. med. Woch., 1898, 321, 362.

Gegengift, ein Antitoxin erzeugen. Diese Thatsache, auf die zuerst EHRLICH[1]) bei seinen grundlegenden Versuchen über ein den Bakterientoxinen nahestehendes pflanzliches Gift, das Ricin, gestoßen ist, ist heute so fest fundiert, dass wir eben die Antitoxinbildung als eine integrierende Eigenschaft des echten Toxins ansehen müssen. Die Bedeutung dieser Antitoxinbildung im Organismus für den Ablauf der Infektionskrankheiten, für das Zustandekommen der erworbenen Immunität und die Verwertung dieser Beziehungen in der monumentalen Seitenkettentheorie können an dieser Stelle nicht abgehandelt werden.

Hier sollen nur empirisch die Beziehungen zwischen dem Antitoxin und seinem Toxin so genau besprochen werden, als sich dieses schwierige Gebiet nach dem heutigen Stande unserer Kenntnisse, die wir den unermüdlichen, klassischen Arbeiten EHRLICHS zum größten Teil verdanken, präzisieren lässt.

Nach der Seitenkettentheorie können nur solche Gifte als echte Toxine wirken, die zu bestimmten Zellen eine spezifische Affinität besitzen. EHRLICH nimmt zur Veranschaulichung dieser spezifischen Affinität an, dass beide Teile, das Toxin einerseits und die anzugreifende Zelle andererseits je eine Atomgruppe in ihrem Protoplasma besitzen, die gegenseitig aufeinander angepasst sind, sich darum binden und so das Toxin durch diese Bindung in den unmittelbaren Bereich der Zellen bringen. Als erster Akt der Toxinwirkung vollzieht sich also eine Anlagerung des Giftes an die Zelle vermittelst der beiderseitigen »haptophoren« Gruppen. Durch diese Anlagerung wird nun die Zelle in den Wirkungskreis des Toxins gebracht und nun vollzieht sich als zweite Phase die spezifische Einwirkung des Giftes auf die Zelle, eine Funktion einer zweiten spezifischen Gruppe, der »toxophoren« Gruppe[2]).

Die Toxine binden also die haptophoren Gruppen der Zellen, die an ihren »Seitenketten« wirksam sind. Werden nun, wie bei der künstlichen Immunisierung, derartige mit haptophoren Gruppen ausgerüstete Seitenketten im Uebermaß produziert und frei in die Körpersäfte, speziell das Blutserum abgeschieden, so behalten diese haptophoren Gruppen ihre Fähigkeit, die entsprechenden haptophoren Gruppen des Toxins zu binden, bei. Diese abgestoßenen Seitenketten stellen also das spezifische Antitoxin gegen das Toxin dar.

---

[1]) EHRLICH, Experimentelle Unters. über Immunität. Deutsche med. Woch., 1891, 976, 1218. — Ders., Zur Kenntnis der Antitoxinwirkung. Fortschr. d. Med., 1897, 41.

[2]) Nur von Atomgruppen in einer Substanz ist die Rede, niemals aber hat EHRLICH behauptet, dass ein Toxin aus zwei Substanzen, einer haptophoren und einer toxophoren, besteht, wie ihm dies DANYSZ (Ann. Past., 1899, 581) unterschiebt. D., der die Vorgänge bei der Plasmatolyse mit der Toxinwirkung zusammenwirft, hat EHRLICH missverstanden.

Aus dieser Vorstellung ergeben sich nun ohne weiteres zwei sehr wichtige Gesichtspunkte für das gegenseitige Verhältnis des Toxins zum Antitoxin. Es werden nämlich dadurch zwei naheliegende Möglichkeiten einer Beeinflussung des Giftes durch seinen spezifischen Antikörper von vornherein ausgeschlossen, nämlich eine direkte Zerstörung des Giftstoffes im ganzen, wie er etwa durch eine starke Säure zerstört werden möchte; und ferner auch ein Einfluss des Antitoxins auf die spezifisch schädliche, die toxophore Gruppe des Giftes, sowie etwa die Giftigkeit des Anilins durch Einführung von Essigsäure in seine giftwirkende Aminogruppe wesentlich herabgesetzt wird. Beides ist mit der Seitenkettentheorie unvereinbar, es kann sich um eine Beeinflussung nur in dem Sinne handeln, dass das Antitoxin die haptophore Gruppe des Toxins absättigt und es dadurch nur an der Möglichkeit hindert, seine toxophore Gruppe durch Anheften an die Zelle zur Wirksamkeit gelangen zu lassen, während sie in Wirklichkeit in ihrer giftigen Kraft unverändert bleibt.

Während wir hier diese grundlegende Anschauung als Konsequenz der von uns als heuristisches Prinzip angenommenen Seitenkettentheorie gezogen haben, ist in Wirklichkeit natürlich die Entwicklung umgekehrt gewesen. Man hat in mühevollen Versuchen zuerst sich zur Ueberzeugung von der Richtigkeit dieser Thatsache durchzuarbeiten gesucht, um sie dann als wichtige Stütze für die Theorie zu verwenden. Ehrlich und Behring sind zuerst der Ansicht gewesen, dass das Toxin in seiner Giftwirkung durch das Antitoxin beeinträchtigt wird; erst später sind sie zu der Ueberzeugung gelangt, dass hier eine einfache Bindung vorliegt.

Die Thatsachen, die zu dieser heute allgemein acceptierten Annahme geführt haben, waren verschiedener Art.

Zunächst war man allgemein der Ansicht, dass das Antitoxin nur indirekt wirkt, indem es den Organismus gegen das Toxin »festmacht«.

Diese Vorstellung wurde später aufgegeben, als man fand, dass Antitoxin und Toxin sich nach streng zahlenmäßigen Gesetzen binden (Gesetz der Multipla), worauf wir später näher eingehen werden. Besonders wichtig aber war es, dass man Vorgänge näher studierte, bei denen eine Intervention des lebenden Organismus sich überhaupt ausschließen ließ, bei denen deutlich sichtbare Vorgänge im Reagenzglas als Indikatoren der Beeinflussung der Toxine durch das Antitoxin benutzt wurden.

Die ersten waren die berühmten Versuche Ehrlichs[1]) über die agglutinierende Wirkung des Ricins auf rote Blutkörper, bei den sich streng zahlenmäßige Beziehungen zwischen Ricin und Antiricin fanden, indem die Blutwirkung bestimmter Ricindosen stets durch die entsprechende

[1]) Ehrlich, Zur Kenntn. d. Antitoxinwirkg. Fortschr. d. Med., 1897, 41.

Dosis Antiserum gerade noch aufgehoben wurde. In analoger Weise vollzieht sich die Hemmung anderer Hämolysine, wie des Schlangengiftes (KANTHACK), des Aalblutes (KOSSEL), des Tetanolysins (EHRLICH) u. s. w.

So waren also direkte Beziehungen zwischen Toxin und Antitoxin nachgewiesen. Doch konnten diese immer noch auf einer direkten Zerstörung des Giftes durch das Gegengift beruhen. Doch zeigten die Thatsachen, dass auch dies nicht der Fall ist, sondern dass eine einfache Bindung beider Komponenten vorliegt.

Besonders der Umstand, dass es Mittel giebt, diese Bindung, wenn sie erst kurze Zeit besteht, in der Weise zu lösen, dass die ursprüngliche Giftwirkung wieder hervortritt, ist für die Annahme einer lockeren Verbindung von ausschlaggebender Bedeutung gewesen. Dies ist mit völliger Sicherheit zuerst CALMETTE an einem tierischen Toxin, dem Schlangengift, gelungen, dessen Antitoxin viel leichter zersetzlich ist, als das Toxin.

Auch beim Pyocyaneustoxin hat WASSERMANN das Antitoxin leichter zerstörbar gefunden, als das Toxin (s. d.), so dass man auch für die Bakterientoxine eine einfache Bindung anzunehmen berechtigt ist.

Die Versuche beruhen darauf, dass eine neutrale Mischung von Toxin-Antitoxin durch Erwärmen einen großen Teil ihrer ursprünglichen Giftigkeit wiedergewann, weil das Antitoxin als leichter angreifbarer Anteil der lockeren Verbindung durch die höhere Temperatur zerstört wurde. Doch darf die Mischung beider Komponenten nur kurze Zeit gedauert haben, da sonst die Trennung der Verbindung nicht mehr möglich ist. Die Trennung beider Komponenten gelang beim Schlangengift auch durch Diffusion, wobei das Toxin schneller diffundierte, als das Antitoxin (MARTIN und CHERRY) (s. b. Schlangengift).

Dagegen sind ähnliche Versuche beim Diphtheriegift fehlgeschlagen (DZIERZGOWSKI [1]). Nun liegen hier die Verhältnisse freilich ganz anders. Zunächst ist, wie EHRLICH gezeigt hat, die Bindung hier eine sehr feste. Aber abgesehen davon ist hier das Toxin das leichter zerstörbare Element, so dass beim Erwärmen des Gemisches nicht dieses, sondern das freie Antitoxin regeneriert werden müsste. Dass dies nicht gelingen kann, ist aber a priori klar; denn bei der Umwandlung des Toxins durch Erwärmen verschwindet das Gift ja gar nicht, sondern geht nur in Toxoïde über, die Bindung aber bleibt bestehen, so dass freies Antitoxin nicht in die Erscheinung treten kann. Diese negativen Versuche beweisen also nichts, da ihr Resultat von vornherein sich theoretisch mit großer Wahrscheinlichkeit vorhersagen ließ.

---

[1]) DZIERZGOWSKI, Zur Frage über die Beziehungen zwischen dem antidiphth. Heilserum u. d. Diphtherietoxin. Arch. internat. de pharmacodyn., V, 1. (1898); s. andererseits auch MARENGHI, Ueb. d. gegens. Wirkg. antidiphth. Serums und des Diphth.-Toxins. Centralbl. f. Bakt., 22, 520 (1897).

Diese Bindung ist eine chemische Reaktion und unterliegt als solche den Gesetzen der chemischen Kinetik. Sowohl die Festigkeit dieser Verbindung, als auch die Reaktionszeit können sehr verschieden sein. So hat das Diphtherieantitoxin eine viel höhere Verwandtschaft zu seinem Toxin und vereinigt sich viel schneller (in 5—10′) als das Tetanusantitoxin mit dem seinen (EHRLICH).

Die Avidität der gegenseitigen Absättigung und damit die Reaktionsgeschwindigkeit hängt aber außerdem noch sehr erheblich ab von der Temperatur, mit deren Steigen sie größer wird, und auch von der Konzentration (EHRLICH, KNORR[1]). In konzentrierten Lösungen geht die Bindung erheblich schneller vor sich.

Auf die Frage der Gleichgewichtszustände zwischen Toxin und Antitoxin können wir erst später eingehen.

Die Ansicht, dass die Antitoxine sich nicht in zahlenmäßig festen Verhältnissen an die Toxine binden, sondern dass ihre Wirkung auf einer schützenden Kraft den Zellen gegenüber beruht, ist trotz aller Widerlegungen noch nicht überall aus dem Wege geräumt. Besonders hat man diesen Schluss daraus zu ziehen gesucht, dass bei Vervielfachung der Toxindosis nicht das gleiche Multiplum an Antitoxin ausreichen soll, d. h. dass diese »schützende« Kraft gegenüber großen Giftdosen versagt. Diese Ansicht hat in neuerer Zeit z. B. wieder BOMSTEIN vertreten. Aber abgesehen davon, dass die EHRLICHschen Ricinversuche, sowie die ganz analogen Resultate von CALMETTE mit Schlangengift und CAMUS, KOSSEL u. a. mit Aalblutgift und viele andere an Erythrocyten jede Intervention des Organismus ausschließen lassen, und nur durch eine direkte Bindung des Giftes durch das Antitoxin zu erklären sind, ist auch die Behauptung, dass die zahlenmäßigen Bindungsverhältnisse nicht stimmen sollen, auf sehr schwache Füße gestellt.

COBBETT & KANTHACK[2] konnten zeigen, dass die Multipla sich genau der Theorie entsprechend verhalten, wenn man gleich anfangs ein Mehrfaches der tödlichen Dosis zum Versuch anwendet.

Sie zeigen durch eine einfache Ueberlegung, dass, besonders bei Anwendung kleiner, der einfach letalen Dosis nahestehender Giftmengen mit großer Wahrscheinlichkeit sich beim Vervielfachen eine Giftwirkung zeigen muss. Denn wenn man eine einfach letale Dosis neutralisiert, so kann ein kleiner Giftüberschuss in der Mischung unbemerkt bleiben, da er nicht einmal die einfach krankmachende Dosis erreichen mag; verzehnfacht man nun aber Giftmenge und Antitoxinmenge, so verzehnfacht sich auch der Giftüberschuss — und die giftige Wirkung der

---

[1]) KNORR, Die Entstehung des Tetanusantitoxins. Fortschr. d. Med., 1897, 657.

[2]) COBBETT & KANTHACK, Ueb. das Schicksal d. Diphtherietoxins im Tierorganismus. Centralbl. f. Bakt., 24, 129 (1898).

Mischung ist evident. Mit solchen Waffen ist also ein Kampf gegen EHRLICHS Ansicht nicht erfolgreich zu führen.

Nach alledem sind wir jetzt, auf praktische Erfahrungen und die Theorie gestützt, berechtigt anzunehmen, dass der Wirkung des Antitoxins auf das Toxin eine gegenseitige Bindung zweier mit spezifischer Affinität begabten Gruppen zu Grunde liegt.

Daraus folgt nun ohne weiteres die fundamentale Thatsache, dass die gegenseitige Einwirkung beider Stoffe den Gesetzen folgen muss, die bei der gegenseitigen Absättigung zweier mit spezifisch aufeinander eingestellten Atomgruppen versehener einfacher chemischer Stoffe Geltung besitzen, nämlich nach festen quantitativen Verhältnissen. So gut die gleiche Menge reines Natriumhydrat stets die gleiche Menge reiner Salzsäure zur Neutralisation braucht, so gut muss das gegenseitige Verhältnis einer bestimmten Toxindosis zu der Menge Antitoxin, die sie gerade »neutralisiert«, ein absolut konstantes sein. Eine gegebene Quantität reinen Toxins muss stets unabänderlich die gleiche Menge reinen Antitoxins verbrauchen, um in seiner Wirksamkeit gerade noch gehemmt zu werden, vorausgesetzt, dass die Bindung eine feste ist, und nicht zu dissoziierten Gleichgewichtszuständen führt, eine Frage, auf die wir erst später eingehen können.

Zwei Umstände sind es, die die Konstatierung dieser so ungemein wichtigen Thatsache außerordentlich erschweren.

Zunächst kennen wir weder Toxine noch Antitoxine in reinem Zustande. Es handelt sich hier nicht um chemisch isolierbare, gegebene Stoffe, denen wir mit der Wage nähertreten könnten, um zu konstatieren, dass x g Diphtherieantitoxin stets y g Diphtherietoxin neutralisieren: die einzige Dosierung, die bei diesen giftigen Stoffen anwendbar ist, ist die physiologische, die Feststellung der »einfachen letalen Dosis«, die man als Grundeinheit für die Messung der Toxinmengen anzunehmen gezwungen ist, resp. beim Studium der Hämolysine die Messung des Grades der lösenden Wirkung.

Indessen wäre dieser Uebelstand nicht sehr schwerwiegend, wenn wir wenigstens zwischen jeder Giftlösung von einer gegebenen Stärke, die wir also dann auf eine als Einheit anzunehmende Giftlösung von bestimmter Toxizität für 1 cm^3 (Normalgift) leicht umrechnen könnten, eine konstante Beziehung mit einer gegebenen Antitoxinlösung konstatieren könnten, so dass schließlich jeder »einfachen letalen Dosis« des Giftes eine bestimmte Menge »Antitoxineinheiten« entspräche. Doch auch dies ist leider nicht der Fall. Fast jede Giftlösung zeigt ein anderes Verhältnis zu der Menge Antitoxinlösung, die sie zu ihrer Neutralisation braucht, wenn man das Verhältnis einer »letalen Dosis« zu der Menge von »Antitoxineinheiten« berechnet.

Wir stoßen hier auf ganz außerordentlich komplizierte Verhältnisse, deren Verworrenheit durch die mühevollen Arbeiten von EHRLICH[1]) zwar zum größten Teil aufgehellt ist, ohne dass aber alle Unklarheiten und Schwierigkeiten gänzlich geschwunden sind. Zunächst hängt die Schnelligkeit, mit der sich Toxin und Antitoxin binden, nicht nur von der Art, sondern auch sehr von der Konzentration der beiden Komponenten ab (s. o.). Vor allem findet man aber, dass jede Diphtheriegiftbouillon außer dem spezifisch wirksamen Toxin noch andere Stoffe in wechselnden Verhältnissen enthält, die zwar nicht die toxophore, wohl aber die haptophore Gruppe des echten Toxins besitzen, und die infolgedessen die letale Dosis, die Giftwirkung nicht beeinflussen, wohl aber das Antitoxin ebensogut in Anspruch nehmen, wie das Toxin selbst. Diese Stoffe entziehen sich also der Beobachtung, wenn man in einer Giftlösung die einzige Maßeinheit, die einfach letale Dosis, bestimmt; sie treten aber sofort in die Erscheinung, sobald man die zur Neutralisierung dieser einfachen letalen Dosis nötige Menge einer bestimmten Antitoxinlösung feststellen will.

Wenn eine reine Giftlösung eine gewisse Menge von cm^3 einer bestimmten Antitoxinlösung verbrauchen würde, so wird diese Zahl um so beträchtlicher erhöht, je mehr dieser nicht giftigen, aber Antitoxin bindenden Stoffe in der unreinen Giftlösung vorhanden sind. Die an Menge wechselnde Anwesenheit dieser Stoffe in jeder Giftlösung erschwert also die Konstatierung der absoluten Konstanz der Bindungsverhältnisse, wie sie die Seitenkettentheorie voraussagt, ganz ungemein; und noch ist es nicht völlig gelungen, dieser Schwierigkeiten in jedem Falle Herr zu werden.

Um uns über die näheren Einzelheiten dieser Frage zu orientieren, müssen wir auf die physiologischen Maßeinheiten zurückgreifen, die BEHRING und EHRLICH für das Studium der Antitoxinwirkung geschaffen haben. Die zahlenmäßigen Grundlagen, die für das Diphtheriegift festgelegt sind, sind folgende:

Als einfach letale Dosis bezeichnet EHRLICH diejenige Giftmenge, ausgedrückt in cm^3 der Giftlösung bezw. in g des festen Giftes, die gerade hinreicht, um ein Meerschweinchen von 250 g (ein Tier von ca. 6 Wochen) im Laufe von 4—5 Tagen zu töten. Diese Dosis ist die physiologische Gifteinheit.

Als Normalgift nahm v. BEHRING eine Giftlösung an, die in einem cm^3 100 letale Dosen enthielt. Dieses »Normalgift« bezeichnete v. BEHRING kurz als DTN^1M^{250} (Diphtherietoxin normal einfach, Meerschweinchen von 250 g).

---

[1]) EHRLICH, Die Wertbemessung des Diphtherieserums. Klin. Jahrb., VI., 299 (1899). — Ders., Ueber die Const. des Diphtheriegiftes. Deutsch. med. Woch., 1898, 597.

Auf diese willkürliche Gifteinheit sind nun die Antitoxinlösungen eingestellt worden. Ein »einfaches« Serum ist ein solches, von dem 1 cm^3 einen cm^3 des Normalgiftes, also hundert Gifteinheiten neutralisiert. Diese Größe, also 1 cm^3 des einfachen Serums, ist die Einheit des Antitoxins, die sogenannte Immunitätseinheit, die man kurz als I. E. schreibt*), und ist als solche, empirisch festgestellt, aufbewahrt worden (s. u.).

Wenn man nun zuerst gegen ein frisches Gift ein Serum eingestellt hat, so ist bei sämtlichen zu gleicher Zeit angestellten Versuchen das Verhältnis Giftlösung zu Antitoxinlösung in cm^3 ausgedrückt völlig konstant. Da nun ferner in diesem frischen Gift stets das Verhältnis von Giftwirkung zur angewandten Menge von cm^3 konstant bleibt, so ist schließlich auch das Verhältnis Giftwirkung zu Antitoxinmenge konstant, d. h. jeder letalen Dosis entspricht stets genau dieselbe Menge Antitoxinlösung, ausgedrückt in cm^3.

Lässt man dagegen dieses Gift einige Zeit ablagern, und stellt es dann von neuem gegen Serum ein, so haben sich die quantitativen Bindungsverhältnisse in einer Beziehung ganz wesentlich geändert. Das Verhältnis Giftlösung zu Antitoxinlösung, in cm^3 ausgedrückt, ist zwar konstant geblieben, d. h. man braucht zu jedem cm^3 der Giftlösung dieselbe Menge von Antitoxinlösung, wie beim frischen Gift, aber diese in cm^3 ausdrückbare Quantität der Giftlösung übt eine beträchtlich geringere Giftwirkung aus, als die gleiche Menge des frischen Giftes. Bestimmt man andererseits, wieviel Antitoxin man zur Sättigung einer Gifteinheit braucht, so findet man naturgemäß eine beträchtlich größere Menge als notwendig, wie sie für das frische Gift erforderlich war.

Daraus folgt, dass die Giftlösung durch das Ablagern schwächer, dass bei einem Teile des Toxins die toxophore Gruppe unwirksam geworden ist; daraus aber, dass die gleiche Anzahl von cm^3 der Giftlösung nach wie vor die gleiche Anzahl von cm^3 des Serums zur Neutralisation brauchen, geht klar hervor, dass bei diesem Abschwächungsprozess die haptophoren Gruppen intakt geblieben sind. Daraus folgt weiter, dass in diesen abgeschwächten Giftlösungen sich Stoffe vorfinden müssen, die zwar durch Verlust ihrer toxophoren Gruppe ungiftig geworden sind, die aber wegen des Besitzes intakter haptophorer Gruppen vor wie nach imstande sind, Antitoxin an sich zu binden.

---

*) Madsen, »Constitution du poison dipht.«, Ann. Past., XIII, 568 (1899) führt noch mehrere praktische Abkürzungen ein. T = Toxineinheit, (T) die Menge Giftbouillon in cm^3, die T enthält (einfach letale Dosis), I = Immunitätseinheit (bei uns I.E. geschrieben) und (I) die Menge Serums in cm^3, die eine I enthält. Wir werden diese Abkürzungen bisweilen benutzen.

Diese Stoffe bezeichnet Ehrlich als *Toxoïde**).

Zum näheren quantitativen Studium dieser Verhältnisse hat Ehrlich zwei Grenzwerte eingeführt, die er als L_0 (limes »Null«) und $L_\dagger$ (limes »Tod«) bezeichnet. Die zahlenmäßige Bedeutung dieser Begriffe ist folgende:

L_0 ist diejenige Menge der zu prüfenden Giftlösung, ausgedrückt in Gifteinheiten (letalen Dosen), die, mit einer Immunitätseinheit vermischt, von dieser völlig neutralisiert wird; so neutralisiert, dass *gar keine* Giftwirkungen in die Erscheinung treten. Dieses Gemisch *einer* Immunitätseinheit mit dem Maximum der Giftlösung versetzt, so dass eben noch keine physiologische, toxische Wirksamkeit erfolgt, ist *physiologisch neutral*.

Der Punkt L_0 ist nicht leicht einwandsfrei zu bestimmen, da es schwer mit absoluter Sicherheit festzustellen ist, ob eine Giftlösung gerade noch eine schwache Wirkung ausübt, oder gar keine mehr. Infolgedessen hat Ehrlich noch einen zweiten Wert eingeführt: $L_\dagger$ ist diejenige Menge der zu prüfenden Giftlösung in Gifteinheiten (letalen Dosen), die zu einer Antitoxineinheit zugesetzt gerade noch hinreicht, um ein Meerschweinchen von 250 g in 4—5 Tagen zu töten. Diese Mischung enthält dann *eine letale Dosis* in freiem Zustande. Dieser Punkt ist leicht und einwandsfrei bestimmbar. Die Differenz $L_\dagger - L_0$ nennt Ehrlich D. Sie müsste, wie ersichtlich, bei reinen Giften = *1 letalen Dosis* sein, ist aber in Wirklichkeit *stets höher*, was von großer Bedeutung für die Erforschung der Konstitution der Gifte ist (s. u.)

Diese Schwellenwerte sind nun, abgesehen von ihrer praktischen Bedeutung für die *Serumprüfung*, von ungemeinem Werte für die Untersuchung der Konstitution der Giftlösungen, besonders des Diphtheriegiftes geworden. Denn mit ihrer Hilfe ist es Ehrlich gelungen, die Zusammensetzung der Giftbouillon in Bezug auf Toxine und Toxoïde festzustellen. Er hat dabei Verhältnisse von sehr großer Kompliziertheit gefunden, deren letzte Rätsel wohl noch die nächste Generation beschäftigen werden.

Die Bedeutung dieser Schwellenwerte für die Bestimmung des Gehaltes der Giftlösungen an Toxin und Toxoïden geht aus folgenden Befunden hervor:

Die Antitoxineinheit ist eine nach einem *bestimmten* Gift eingestellte Größe, die vorläufig nicht wieder reproduzierbar ist, sondern nur dadurch festgelegt worden ist, dass Ehrlich ein einmal titriertes Serum von 1700 facher Stärke unter besonderen Kautelen (Vacuum, Dunkel-

---

*) Auf die Existenz derartiger ungiftiger, aber immunisierender Bakterienprodukte haben schon vorher u. a. Fränkel (cit. n. Ehrlich, D. m. W., 1891, 978) und Aronson (Berl. kl. Woch., 1893, 625) hingedeutet.

heit, Eis, Trockenheit) aufbewahrt hat, und an diesem Serum nach zweckmäßiger Verdünnung neue Testgifte einstellt, die dann wieder zur Prüfung neuer Sera dienen. Bei dem ursprünglichen Normalgift entsprach eine Antitoxineinheit 100 letalen Dosen, zu einer Neutralisation einer Immunitätseinheit also würden von diesem BEHRINGschen Normalgift 100 letale Dosen gehören, d. h. L_0 ist gleich 100. Es ist diese zahlenmäßige Beziehung aber durchaus nicht für alle Gifte notwendig, es könnten auch Gifte existieren, bei denen ein größerer Teil der Immunitätseinheit von nichtgiftigen Haptinen, von Toxoïden in Anspruch genommen würde, so dass nur noch ein geringerer Teil von wirklichem Toxin, dessen Menge sich in den Gifteinheiten ausdrückt, gebunden wird, d. h. L_0 wird dann kleiner als hundert. Bei den meisten frischen Giften ist dies aber nicht der Fall, L_0 ist bei ihnen wirklich bei 100, d. h. diese frischen Gifte sind thatsächlich gleich dem Normalgift BEHRINGS konstituiert.

Anders aber gestaltet sich die Bestimmung bei älteren Giftlösungen, wie wir bereits oben angedeutet haben; hier ist ein Teil des Toxins in Toxoïde übergeführt, d. h. L_0 wird kleiner; es genügen weniger Gifteinheiten bei gleicher Menge in Raummaß, um die Neutralisationsstufe zu erreichen. Andererseits giebt es aber auch Gifte, deren Relativgehalt an echtem Toxin höher ist, als der des BEHRINGschen Normalgiftes, so dass wir zu der folgenschweren Annahme gezwungen sind, dass auch schon die frischen Gifte nicht nur giftige Haptine, Toxine enthalten, sondern auch relativ ungiftige, die EHRLICH von den erst sekundär entstehenden Toxoïden unter dem Begriff der Toxone abgetrennt hat. Die Bestimmung von L_0 führt also zu folgendem Resultat:

Jede Giftlösung enthält schon in frischem Zustande neben dem echten Toxin ungiftige Haptine, Toxone, die bei den meisten frischen Giften in einem so konstanten Verhältnis zu den echten Toxinen stehen, dass für die meisten frischen Gifte $L_0 = 100$ ist. Bei einigen Giftlösungen finden sich indessen auch relativ mehr oder weniger Toxone, so dass L_0 schon bei frischen Giften bisweilen größer oder kleiner als 100 sein kann. Bei allen Giften aber entstehen dann sekundär beim Ablagern der Gifte aus dem Toxin Toxoïde, die dann unter allen Umständen L_0 herabdrücken.

Auf die Art und Weise, wie die Toxine sich in Toxoïde verwandeln, und vor allem die quantitativen Verhältnisse dieser Umwandlung werden wir erst später eingehen können; jetzt soll uns zunächst die Bedeutung des L_+-Grenzwertes beschäftigen. Während nämlich die sekundär entstehenden Toxoïde auf die Größe der L_0-Dosis entscheidenden Einfluss haben, sind sie, wie EHRLICH festgestellt hat, für L_+ und damit auch D ohne Einfluss.

Es sind nämlich a priori drei Arten von Toxoïden denkbar: Zunächst

3*

solche, die eine höhere Affinität zum Antitoxin besitzen als das Toxin, also sich zuerst, vor dem Toxin, an das Antitoxin binden, und eventuell imstande sind, schon bestehende Bindungen zwischen Toxin und Antitoxin wieder zu ihren Gunsten zu lösen. Dies sind die *Protoxoïde*.

Eine zweite Kategorie sind die *Syntoxoïde*, die die *gleiche* Affinität zum Antitoxin besitzen, wie das Toxin, also Bindungen unbeeinflusst lassen und in ihrer Bindung mit dem Antitoxin vom Toxin ebenfalls unbeeinflusst bleiben; schließlich kann es noch *Epitoxoïde* geben, die schwächere Affinität zum Antitoxin besitzen und von dem Toxin aus dieser Bindung wieder in Freiheit gesetzt werden können. Derartige *Epitoxoïde* entstehen nun, wie Ehrlich feststellen konnte, *nicht* sekundär, sondern finden sich schon in den *frischen* Giftlösungen: sie sind identisch mit den oben erwähnten *Toxonen*.

Aus dieser Erwägung ergeben sich für die Bedeutung der Toxoïde und Toxone für $L_\dagger$ resp. D folgende Gesichtspunkte:

Die sekundär entstehenden Toxoïde, also *Pro-* und *Syntoxoïde* *sind auf* $L_\dagger$ *ohne jeden Einfluss*, wie eine sehr einfache Ueberlegung zeigt.

Gesetzt, wir hätten ein *neutrales* Gemisch von Antitoxin einerseits, von Toxin und Protoxoïd andererseits, so können wir diesen Gleichgewichtszustand durch eine Formel wie folgt, bildlich ausdrücken:

90 Toxin - Antitoxin + 10 Protoxoïd Antitoxin = physiologisch neutral (L_0). Nun fügt man, um $L_\dagger$ zu suchen, neue Giftmengen desselben Giftes zu. Es können dabei keine Veränderungen in den bereits vorhandenen Bindungen zwischen Toxin und Antitoxin, sowie Protoxoïd und Antitoxin eintreten, die etwa noch zugesetzte Toxindosen *neu binden*, also für $L_\dagger$ verschwinden machen: d. h. sobald die zugesetzte Giftmenge noch *eine* letale Dosis dem neutralen Gemisch zuführt, ist $L_\dagger$ erreicht, wie es die Theorie für reine Gifte fordert; bildlich ließe sich das so ausdrücken

$$90\ \text{T-A} + 10\ \text{P-A} + 1\ \text{Toxin} = L_\dagger.$$

Das Vorhandensein von Protoxoïden kann also nicht bewirken, dass $L_\dagger - L_0$ *(D) größer als eine letale Dosis wird.*

Ebensowenig können die Syntoxoïde darauf Einfluss haben, D zu erhöhen. Auch sie werden in ihrer Bindung durch Toxinzusatz nicht beeinflusst, der Zusatz von neuem Giftgemisch bewirkt $L_\dagger$, sobald zu L_0 *eine* letale Dosis zugefügt wird.

Sämtliche sekundären Toxoïde sind also auf D ohne Einfluss.

Ganz anders aber gestaltet sich das Bild, wenn wir die *Toxone* daraufhin untersuchen.

Lassen wir jetzt die für diese Frage gleichgiltigen Toxoïde beiseite

und bezeichnen wir ein neutrales Gemisch von Toxin und Toxon mit Antitoxin (L_0) folgendermaßen:

$$90 \text{ T-A} + 10 \text{ Toxon-A} = L_0.$$

Jetzt setzen wir neue Giftmengen hinzu.

Setzen wir zunächst eine Quantität hinzu, die gerade eine Toxineinheit enthält, so finden wir, dass dadurch noch keineswegs $L_\dagger$ erreicht werden kann; denn das Toxin setzt eine Toxoneinheit aus ihrer Bindung mit dem Antitoxin in Freiheit; an Stelle des zugesetzten freien Toxins finden wir ein freies Toxon nach folgendem Schema:

$$90 \text{ T-A} + 10 \text{ Toxon-A} + 1 \text{ Toxin} =$$
$$91 \text{ T-A} + 9 \text{ Toxon-A} + 1 \text{ Toxon (frei)} = L_0!$$

So geht es fort bis sämtliche Toxone frei sind. Dann erst erzeugt die nächste Toxineinheit $L_\dagger$:

$$100 \text{ T-A} + 10 \text{ Toxone (frei)} = L_0$$
$$100 \text{ T-A} + 10 \text{ Toxone} + 1 \text{ Toxin} = L_\dagger!$$

Wir hätten also bei diesem Schema nicht eine, sondern **elf** Gifteinheiten zu L_0 zuzufügen, ehe $L_\dagger$ eintritt, D ist also = 11!

Wir sehen also, dass die Toxone die Eigenschaft haben, die Differenz D über die theoretisch für reine Gifte geforderte Größe »Eins« hinaus zu vergrößern.

Die Relativmenge derartiger Toxone schwankt sehr beträchtlich, infolgedessen ist auch D eine sehr wechselnde Größe: Ehrlich fand sie bei elf Giften zwischen 1,7 und 28 Gifteinheiten schwankend.

Die Zahl D ist also nach Abzug der schließlich definitiv wirksamen einen Gifteinheit (D — 1) das Maß für die Menge der in den Giftlösungen vorhandenen Toxone. Dadurch, dass diese Abweichungen der Zahl D schon bei frischen Giften vorkommen, und sie sich beim Aelterwerden des Giftes nicht ändert, wenn sich L_0 verkleinert, lässt sich erweisen, dass die Toxone nicht sekundär entstehende Zerfallsprodukte des Toxins, sondern primäre Bakterienprodukte, ungiftige Haptine sind.

Uebrigens sind sie physiologisch nicht ganz unwirksam; ihre Wirkungen kann man in der von Ehrlich so genannten »Differentialzone« studieren, d. h. zwischen L_0 und $L_\dagger$, wo nach seiner Anschauung freie Toxone vorhanden sind. Sie zeigen geringe, von den Wirkungen kleiner, nicht tödlicher Toxindosen wesentlich abweichende Giftwirkungen, auf die wir noch zurückkommen werden.

Besonders wichtig sind die Entdeckungen von Madsen, dass man mit Giftgemischen in der Differentialzone, die also nur noch Toxone frei enthalten, eine antitoxische Immunität herbeiführen kann, worauf wir an geeigneter Stelle näher eingehen werden (s. im speziellen Teil b. Diphtheriegift).

Ehrlich hat dann weiterhin durch unendlich mühevolle und schwierige Arbeiten noch Klarheit über die quantitativen Verhältnisse der

Gifte und die zahlenmäßigen Bedingungen ihres Zerfalls zu schaffen gesucht. Es ergaben sich dabei Verhältnisse von ungemeiner Kompliziertheit, auf die wir hier nur kurz eingehen wollen.

Ehrlich setzt zunächst für ein jedes beliebige Gift die Formel fest. Es besteht aus

$$x \text{ Toxoïd} + y \text{ Toxin} + z \text{ Toxon}.$$

y ist durch physiologische Wertbestimmung (Feststellung der letalen Dosis) zu konstatieren, und ist dann $= \alpha$; z, die Toxonzahl, ist eine Funktion (F) der ebenfalls zahlenmäßig auszudrückenden Größe D — 1, die Ehrlich als β bezeichnet. Die Formel ist also für jede bestimmte Giftlösung zu schreiben:

$$x \text{ Toxoïd} + \alpha \text{ Toxin} + F(\beta) \text{ Toxon}.$$

Die Entstehung der Toxoïde illustriert folgender Versuch:

Die meisten Gifte haben, wie bereits erwähnt, in frischem Zustand die Dosis $L_0 = 100$.

So fand Ehrlich, dass eines seiner frischen Diphtheriegifte so beschaffen war, dass eine I. E. 0,31 cm^3 Gift sättigte. Demnach musste das Gift eine letale Dosis von $\frac{0,31}{100} = 0,0031$ cm^3 besitzen, was thatsächlich der Fall war. Also war auch bei diesem Gift $L_0 = 100$. Nach dreiviertel Jahren zeigte dasselbe Gift dieselbe Neutralisationsmenge in cm^3, aber die einfach letale Dosis war auf 0,009 gestiegen, L_0 war also gleich ca. 33, d. h. schon 33 Gifteinheiten (in 0,31 cm^3 enthalten) entsprachen der Dosis L_0; dann blieb Giftwert und L_0-Dosis konstant.

Andere Gifte zerfallen so, dass $L_0 = 50$ wird, wieder andere zeigen eine schließlich konstante L_0-Dosis von 25 u. s. w.

Es scheint also, als ob die Toxine entweder so zerfallen, dass die Hälfte unwirksam wird, oder dass sie sich trichotomisch verändern, so dass 2 Teile Toxoïd und 1 Teil beständiges Toxin sich bilden.

Vor allem hat Ehrlich versucht, die absolute Bedeutung einer I. E. zu ergründen, d. h. zu entscheiden, wievielen Sättigungseinheiten die I. E. in den aus Toxinen, Toxonen und Toxoïden bestehenden Giften entspricht, wieviel haptophore Gruppen, um es ganz roh auszudrücken, der Anzahl in einer I. E. entsprechen. Er ist sehr geneigt, dafür die Zahl 200 anzunehmen. Er gelangt zu dieser Zahl aus folgenden Erwägungen.

Die frischen Gifte zeigen meist $L_0 = 100$, sie zerfallen nachher so, dass ihre L_0-Zahlen mit 100 in sehr einfachem Verhältnis stehen; daraus schließt er, dass die absolute Bindungskraft ebenfalls mit der Zahl 100 sehr einfach verwandt sein müsse. Nun hat man aber nie ein Gift gefunden, trotz aller Reinigungsversuche, dessen L_0-Zahl höher als 200 gewesen wäre; die höchste L_0-Dosis beträgt sogar bei einem sicher

noch nicht reinen Gift 160 (MADSEN). Aus alledem schließt er, dass jede Giftbouillon 200 Sättigungseinheiten enthalten müsse; dass also I. E. = 200 Sättigungseinheiten ist. Ein absolut reines Gift (ohne Toxone) würde also in frischem Zustand (also ohne Toxoïde) eine L_0-Zahl von 200, eine L_+-Zahl von 201 aufweisen.

Dann ist also in der oben aufgestellten allgemeinen Formel x + y + z = 200, daraus lässt sich dann auch die Menge der Toxone mit Benutzung der Größen α und β berechnen, wobei α die Menge der Gifteinheiten, β die Größe D — 1 ist. Wenn z die Menge der Toxone ist, so ist bei der Annahme von 200 Bindungseinheiten die Menge der Toxine und Toxoïde 200 — z. Diè Formel jedes Giftgemisches bei L_0 ist dann $L_0 = (200 - z)$ Toxin-Toxoïd + z Toxon, alles an Antitoxin gebunden. Um also ein Toxon in Freiheit zu setzen, braucht man Zusatz von $\frac{1}{200 - z}$, wovon $\frac{1}{200 - z}\,\alpha$ der Toxinanteil ist. Um also z Toxone in Freiheit zu setzen, braucht man $\frac{z}{200 - z}\alpha$. Dies ist also die Menge von Giftlösung, ausgedrückt in Gifteinheiten, die man zu (I. E.) + L_0 zusetzen muss, um ein Gemisch zu erzielen, in dem sämtliche Toxone frei sind, in dem also eine jetzt noch zugesetzte Gifteinheit L_+ herbeiführt, die Menge $\frac{z}{200 = z}\alpha$ ist also = D — 1 = β. Wir haben also um z, die Toxonmenge einer Giftbouillon zu finden, eine Gleichung mit einer Unbekannten:

$$\beta = \frac{z}{200 - z}\alpha,$$

woraus folgt

$$z = \frac{200\,\beta}{\alpha + \beta},\ ^{*)}$$

Rechnet er mit Hilfe dieser Formel die Toxonzahlen für die von ihm untersuchten Gifte aus, so findet er auch für die Toxone Zahlen, die mit 100 sehr einfach verwandt sind, z. B. 100, 50, 25, oder 33, 66 u. s. w. Nach diesen einfachen Beziehungen ist es möglich, durch Feststellung von α und β jederzeit auf Grund der Annahme von 200 Sättigungseinheiten die Immunitätseinheit, die vorher nur eine empirische Maßeinheit war, zu reproduzieren, da es möglich ist, dadurch den Toxinanteil und den Toxonanteil zu bestimmen, d. h. bei frischen Giften, die Toxoïde nicht enthalten, die gesamte Konstitution klarzulegen. Die meisten Gifte scheinen in frischem Zustande aus 100 Teilen Toxin und 100 Teilen Toxon zu bestehen.

---

*) $\beta(200 - z) = \alpha z$; $200\beta - \beta z = \alpha z$; $\alpha z + \beta z = 200\beta$; $z(\alpha + \beta) = 200\beta$; $z = \frac{200\beta}{\alpha + \beta}$.

Die Umwandlung des Toxins in Toxoïde wird zumeist durch einfaches Lagern der Gifte erreicht; hierbei bleibt dann gewöhnlich die L_0-Dosis nach einiger Zeit konstant, die Umwandlung macht bei einer bestimmten Grenze Halt und neue Toxoïde entstehen nicht mehr*). Doch scheint diese Regel nicht ohne Ausnahme, wenigstens hat MADSEN[1]), der in seiner Arbeit eine völlige Bestätigung der EHRLICHschen Untersuchungen gegeben hat, ein Gift beschrieben, dessen Entgiftung dauernd fortzuschreiten scheint. Er fand bei der letzten Bestimmung L_0 schon auf 10, L_+ auf 15 herabgesunken, so dass er es für möglich hält, dass die Bouillon allmählich völlig ungiftig werden und nur noch Toxoïde enthalten möge.

Interessant ist ferner, dass auch die Toxone nicht unverändert bleiben, wie sowohl EHRLICH als auch MADSEN fanden. Bei ihnen leidet die haptophore Gruppe, es tritt Toxonoïdbildung auf, dies drückt sich dadurch aus, das L_0 sich erhöht, denn wenn aus einem Gemisch von 100 Toxin : 100 Toxon ein Teil der Antitoxin bindenden Toxone sich an der haptophoren Gruppe ändert und so durch Bindung nicht mehr nachweisen lässt, so wird naturgemäß der Toxinanteil an den 200 Sättigungseinheiten größer als 100. Dass man L_0-Werte von z. B. 133, den MADSEN bei einem Gifte fand, schon in frischen Giften konstatieren kann, führt er als wahrscheinlich darauf zurück, dass Toxonoïdbildung schon in der allerersten Zeit während der Toxinproduktion vor sich gehen möge.

Das Licht wirkt nach MADSEN auf beide Gruppen, sowohl die haptophore als die toxophore, schädigend; er fand bei einem dem Sonnenlicht ausgesetzten Giftgemisch, dass zwar die Toxizität stark abnahm, gleichzeitig aber L_0 und L_+ zunahmen; das Toxin verschwindet schließlich in seiner Spezifität ganz, aber das Gemisch bleibt darum doch giftig; die Tiere sterben an Kachexieen, man findet aber bei der Sektion nichts für das Diphtheriegift Charakteristisches; es bilden sich also unter dem Einfluss des Lichtes, sit venia verbo, giftige Toxoïde.

EHRLICH hat sich mit allen diesen mühevollen Untersuchungen, durch wiederholte Bestimmungen der L_0- und L_+-Dosis Aufschluss über die Konstitution des Diphtheriegiftes zu gewinnen, nicht begnügt; er ist durch Anwendung einer zweiten, noch scharfsinnigeren Methode weiter in ihre Geheimnisse eingedrungen.

Wenn man die Hypothese zu Grunde legt, dass die Toxoïde, Toxine und Toxone verschiedene Avidität zum Antitoxin besitzen, so ergiebt sich das Postulat, dass sie sich auch nicht in gleicher Verteilung an eine gegebene Menge Antitoxin binden. Das ist schon durch die Bestimmung der L_+-Dosis wahrscheinlich gemacht; bewiesen kann es erst durch eine direkte quantitative Untersuchung der verschiedenen Avidität.

---

*) Dieser Standpunkt pflegt nach einem Jahr meist erreicht zu sein. Infolgedessen werden zur Serumprüfung nur solche Gifte verwendet, die in größeren Quantitäten (4—5 l Bouillon) unter einer hohen Toluolschicht 1 Jahr lang gelagert sind. (DÖNITZ, Ber. üb. die Thätigkeit des Kgl. Instituts f. Serumforschung u.s.w. S. A. a. d. »Klin. Jahrbuch« VII (1899).

[1]) MADSEN, Constitution du poison diphthérique. Ann. Past., XIII, 568, 1899.

Dies hat Ehrlich und nach ihm Madsen (l. c.) in folgender Weise bewerkstelligt: Wenn man zu 200 Sättigungseinheiten (bei frischen Giften also 100 Gifteinheiten) eine Immunitätseinheit zusetzt, so ist das Gemisch physiologisch völlig neutral (L_0). Vermindert man nun die Menge der zu derselben Giftmenge zugesetzten Antitoxinmenge, setzt man gemessene Bruchteile von 1 I. E. (200 Bindungseinheiten) hinzu, so wird allmählich die Giftigkeit wieder in die Erscheinung treten, es wird freies Toxin übrigbleiben. Bestände die Giftbouillon aus reinem Toxin, so würde sofort bei einer Verminderung um 1 Bindungseinheit Antitoxin eine Gifteinheit freiwerden, bei 2 B. E. 2 T u. s. w. bis die 200 T sämtlich freigeworden sind. Enthielte die Giftbouillon außer dem Toxin nur noch ungiftige Haptine von gleicher Avidität, so würde jede Verminderung um 1 B. E. einen Bruchteil einer Gifteinheit freisetzen, aber diese Erscheinung würde sich ganz gleichmäßig vollziehen, so dass, wenn eine Verminderung um 20 B. E. 10 T in Freiheit ließe, eine solche um 100 B. E. 50 T freilassen würde. Ganz anders aber gestaltet sich die Sache, wenn hier Stoffe von verschiedener Affinität vorhanden sind. Dann werden bei eintretender Verminderung von B.-E. zuerst die Haptine freigemacht, die die geringste Affinität besitzen, (die Toxone), dann die von mittlerer Avidität (die Toxine und Syntoxoïde), und erst ganz zum Schluss die mit der größten Verwandtschaft ausgestatteten (Protoxoïde). Oder anders ausgedrückt, wenn man eine gegebene Giftmischung mit steigenden Antitoxindosen sättigt, so werden sich erst die Protoxoïde, dann die Toxine und zum Schluss erst die Toxone absättigen.

Diese von der Theorie geforderten Verhältnisse lassen sich nun experimentell erweisen. Wenn man von 200 : 200 herabgeht, so treten bis zu einer gewissen Grenze keine Toxinwirkungen, sondern nur die oben erwähnten, andersartigen Toxonwirkungen auf. (Zone der freien Toxone.) Geht man unter diese Grenze herunter, so sind die Verhältnisse verschieden, je nachdem das Gift nur noch Toxine enthält (frische Gifte) oder aber auch noch Syntoxoïde und Protoxoïde.

Im ersteren, einfacheren Fall bringt dann jede Verminderung um $\frac{1}{200}$ I. E. (eine B. E.) eine letale Dosis in Freiheit und dies setzt sich bis zu Ende fort. Meist wird diese Grenze bei $\frac{100}{200}$ liegen. Dann hätte man also:

$$\text{X ccm Gift (100 letale Dosen)} + \frac{200}{200} \text{ I. E.} = 0$$

$$\text{X ccm Gift} + \frac{150}{200} = \text{Toxonwirkung}$$

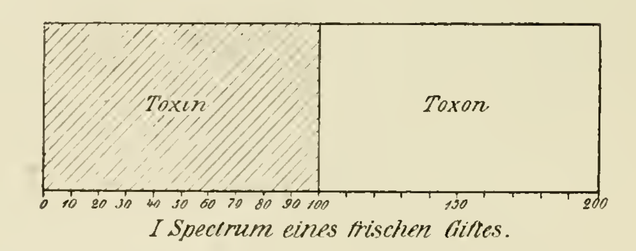
$$\text{X ccm Gift} + \frac{100}{200} = \quad \text{do.}$$

$$\text{X ccm Gift} + \frac{99}{200} = \begin{array}{l}\text{1 Toxinwirkung}\\ \text{(1 letale Dosis)}\end{array}$$

$$\text{X ccm Gift} + \frac{70}{200} = \text{30 let. D.}$$

$$\text{X ccm Gift} + \frac{10}{200}\ \text{90 let. D. u. s. w.}$$

Das »Spectrum« (EHRLICH) dieses denkbar einfachsten Giftes würde sich also so gestalten:



I Spectrum eines frischen Giftes.

So einfach liegen nun die Verhältnisse wohl niemals. Erstens sind die Toxine an sich wiederum nicht einheitlich in ihrer Avidität, worauf wir noch zurückkommen werden, zweitens bilden sich sehr bald Protoxoïde, die die Kurve verändern. Nehmen wir z. B. folgende Zahlenreihe:

$$\text{X Gift} + \frac{200}{200} = 0$$

$$\text{X Gift} + \frac{180}{200} = \text{Toxon frei}$$

$$\text{X Gift} + \frac{160}{200} = \text{Toxon frei}$$

$$\text{X Gift} + \frac{159}{200} = \text{1 T frei}$$

$$\text{X Gift} + \frac{100}{200} = \text{60 T frei}$$

$$\text{X Gift} + \frac{50}{200} = \text{100 T frei}$$

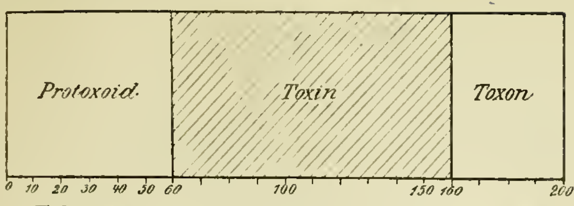
Nun stoßen wir auf die ungiftigen Protoxoïde:

$$\text{X Gift} + \frac{59}{200} = \text{100 T frei}$$

$$\text{X Gift} + \frac{30}{200} = \text{100 T frei}$$

$$\text{X Gift} + \frac{1}{200} = \text{100 T frei}$$

Das Spectrum würde aussehen:



II. Spectrum eines Giftes im Protoxoidstadium.

Eine weitere Komplikation ist die Bildung der Syntoxoïde (Hemitoxinbildung).

Gesetzt, das Toxin zerfällt in gleiche Teile Toxin und Syntoxoïd, so gestaltet sich die Absättigung folgendermaßen:

$$\text{X ccm Gift} + \frac{200}{200} = 0$$

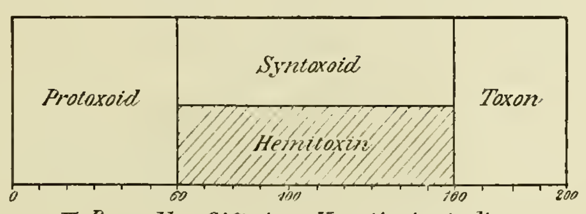
$$\text{do.} \quad + \frac{160}{200} = \text{Toxon}$$

$$\text{do.} \quad + \frac{158}{200} = 1 \text{ T frei}$$

$$\text{do.} \quad + \frac{156}{200} = 2 \text{ T frei}$$

$$\text{do.} \quad + \frac{100}{200} = 30 \text{ T frei u. s. w.}$$

Das Spectrum (des gleichen Giftes) nach Syntoxoïdbildung würde so aussehen:



III. Dasselbe Gift im Hemitoxinstadium.

In Wirklichkeit gestaltet sich aber das Bild noch viel komplizierter. Ich will hier auf die Bilder der einzelnen Giftspectra, die Ehrlich und Madsen publiziert haben, nicht speziell eingehen; ich wollte nur die Prinzipien dieser Methode erwähnen, und kann mich nun damit begnügen, einfach die Resultate, die sie aus diesen Analysen gezogen haben, mitzuteilen.

Die quantitative Umsetzung von Giften beim Lagern gestaltet sich demgemäß folgendermaßen: Zunächst sind nur Toxine und Toxone vorhanden. Die Toxine bestehen aus drei verschiedenen Unterarten, die verschiedene Affinität zum Antitoxin haben, dem Proto-, Deutero- und Tritotoxin.

Letzteres steht den Toxonen am nächsten. Ferner besteht jede dieser Toxinabarten aus zwei Modifikationen, dem α- und β-Toxin, und zwar zu gleichen Teilen. Die α-Modifikation aller drei Toxine zerfällt sehr schnell unter Verlust der toxophoren Gruppen: Bildung von Syntoxoïden, Ausbildung des oben erwähnten Hemitoxinstadiums.

Dann beginnt, schon früh, die Zerstörung der toxophoren Gruppe des β-Tritotoxins, die aber nie bis zur völligen Ersetzung des Toxins durch Toxoïd fortschreitet, es bleiben stets geringe Toxinmengen in dieser Zone zurück, z. B. 3 : 7, 2 : 8, oder 1 : 9 Toxoïd, was sich in den Spektren daran zu erkennen giebt, dass hier noch Giftwirkungen eintreten, dass z. B. bei 1 : 9 eine Verminderung um 10 . B. E. 1 letale Dose freimacht.

Später erst verschwindet auch das β-Prototoxin (Ausbildung der Protoxoïdzone). Schließlich bleibt also neben einer kleinen Menge β-Tritotoxins nur noch das β-Deuterotoxin bestehen; und damit pflegt dann gewöhnlich der Zerfall Halt zu machen; in dieser Form bleibt das Gift durch lange Zeiten unverändert.

Von diesen Regeln scheint es bisweilen Ausnahmen zu geben. Sowohl Ehrlich als auch Madsen haben Spectra angegeben, wo schon bei sehr frischen Giften eine Ausbildung der Protoxoïdzone nachweisbar ist, obgleich selbst das α-Deuterotoxin noch intakt ist, so dass noch eine Zone Volltoxin vorhanden ist.

Doch glaubt Madsen (l. c.) aus der oben erwähnten fortdauernden Verminderung der Toxizität seines reinen Giftes den Schluss ziehen zu müssen, dass auch das β-Deuterotoxin nicht gleichmäßig ist, sondern leichter zersetzbare Anteile hat, die zu dem Tritotoxin überleiten.

Sehr interessant ist eine Bestätigung dieser außerordentlich komplizierten Verhältnisse dadurch, dass es Madsen (l. c.) mehrfach gelang, die nach der oben angegebenen Formel $z = \frac{200\,\beta}{\alpha + \beta}$ berechneten Toxonmengen in diesen Spektren mit aller wünschenswerten Genauigkeit wiederzufinden.

So ergab sich ihm einmal eine berechnete Toxonzahl z = 33,33, und er fand, dass bei $\frac{170}{200}$ die Tiere sämtlich am Leben blieben, bei $\frac{160}{200}$ dagegen starben, so dass die Toxonzahl darnach zwischen 30 und 40 liegen muss.

Es erhellt des weiteren, dass ein völliges Umbilden gewisser den Toxonen nahestehender Teile des Tritotoxins die Toxonzone vergrößern muss, denn die Tritotoxoïde sind dort, wo sie rein auftreten, wo also nicht mehr ein, wenn auch noch so kleiner Toxinanteil nachzuweisen ist, infolge ihrer den Toxonen gleichstehenden geringeren Avidität sowohl bei der L_+-Bestimmung nicht mehr zu erkennen, als auch verschmelzen sie mit den Toxonen, ihrer völligen Ungiftigkeit halber, bei der Aufstellung der Spectra. So ist also eine scheinbare Vermehrung der Toxone gegenüber ihrer Menge im frischen

Gift, die EHRLICH nicht anerkannt hat, die aber MADSEN (l. c. pag. 819) gefunden hat, zu erklären.

Eine absolut scharfe Grenze zwischen den einzelnen Bezirken ist nicht zu konstatieren. Es scheinen vielmehr Uebergänge stattzufinden, sowohl zwischen Toxonen und Toxinen, wie zwischen diesen und Protoxoïden, soweit man nicht solche unscharfe Uebergänge mit MADSEN auf den Einfluss verschiedener Konzentrations- und Temperaturverhältnisse zurückführen will, die die quantitativen Bindungsverhältnisse woh in geringem Maße zu beeinflussen imstande sind.

Die Toxine und Antitoxine im Lichte der physikalischen Chemie.

Die moderne physikalische Chemie, die unsere Ansichten über das Wesen der chemischen Vorgänge so tiefgreifend reformiert hat, beginnt seit kurzem auch die physiologisch-chemischen Prozesse zu studieren. Von wie großem Einfluss diese Vorstellungen und Methoden auf die Lehre von den Fermenten gewesen sind, habe ich an anderer Stelle[1]) auseinandergesetzt. In neuester Zeit beginnt man nun auch die Vorgänge, die der Wirkung der Toxine und Antitoxine zu Grunde liegen, mit Hilfe der kinetischen Vorstellungen der physikalischen Chemie zu untersuchen. Man kann der Hoffnung Raum geben, dass es auf diesem Wege gelingen möge, das, was uns EHRLICH durch seine geniale Anschauungsart vorstellbar gemacht hat, nun auch zahlenmäßig, in mathematischem Ausdruck zu fassen. Vorläufig stehen diese Bestrebungen allerdings noch im allerersten Anfang.

Die Vorgänge, die sich bei der Bindung der Toxine an die Rezeptoren der lebenden Zellen vollziehen, sind dieser Untersuchungsmethode wohl für alle Zeit unzugänglich. So hat man denn naturgemäß bei denjenigen Prozessen den Hebel angesetzt, wo wir den Ablauf und das Resultat in vitro verfolgen können, bei der Hämolyse. Auch hier haben wir es EHRLICH zu verdanken, dass wir für diese Prozesse im Besitz exakter Messungsmethoden sind.

So behandelt denn die erste wichtige Arbeit auf diesem neuen Gebiet die Hämolyse einerseits unter dem Einfluss einfacher Blutgifte, andererseits spezifischer blutlösender Haptine, nämlich des Tetanolysins.

ARRHENIUS & MADSEN[2]) untersuchen den Verlauf der Hämolyse durch NH_3, NaOH und Tetanolysin.

Als Testobjekt für die Hämolyse wurde eine 2,5 proz., vom Serum gut ausgewaschene Emulsion von Pferdeblutkörperchen benutzt, je nach

---

[1]) OPPENHEIMER, Die Fermente und ihre Wirkungen. 2. Aufl. Leipzig 1903.

[2]) ARRHENIUS & MADSEN, Anwendg. d. physik. Ch. auf d. Stud. der Toxine u. Antitoxine. Z. physik. Ch., 44, 1 (1903).

Bedarf in isotonischer ClNa- oder Rohrzuckerlösung. Die Messung des Grades der Hämolyse geschah kolorimetrisch durch Vergleichung mit Pferdeblutlösungen, indem sie die Farbstärke einer Lösung von 2,5 ccm Blut in 100 ccm dest. Wasser = 100 setzten und durch entsprechende Verdünnung eine Farbskala herstellten.

Für Vergleiche ist bei gleichbleibender Blutmenge (stets 10 ccm der obigen Aufschwemmung) nur dasjenige verhältnismäßig enge Intervall geeignet, bei dessen unterer Grenze die Hämolyse gerade beginnt und bei dessen oberer Grenze sie komplett ist.

Als erstes Resultat ergab sich dann, dass mit zunehmender Toxinmenge[1]) die Hämolyse sehr schnell zunimmt, und zwar in grober Annäherung so, dass sie proportional ist dem Quadrat der Toxinkonzentration.

Die »Konzentration« des lösenden Agens ist nun nicht ohne weiteres der zugesetzten Menge entsprechend. Bei NH_3 und NaOH wird nämlich eine gewisse Menge an die Blutkörper gebunden, die in der Konzentration nicht mitspricht. Beim Tetanolysin ist diese Bindung so schwach, dass diese Zahlen keiner Korrektur bedürfen.

Aus diesem Grunde lässt sich für NH_3 und NaOH eine untere Grenze finden, wo die Hämolyse ganz ausbleibt, für Tetanolysin nicht.

Es wurden nun Versuchsreihen angestellt, in denen einerseits der Prozentgehalt an Blutkörperchen, andererseits die Menge des »Toxins« (in obigem Sinne) variiert wurde. Der einfachste Fall ist der, dass das Toxin in einem derartigen Ueberschuss vorhanden ist, dass stets komplete Hämolyse eintritt. Trägt man in diesem Fall den Prozentgehalt des Blutes auf die Abszisse, den Grad der Hämolyse als Ordinaten auf, so bildet das Ordinatensystem naturgemäß eine ansteigende gerade Linie. Ist aber die Menge des Toxins geringer, so stellt nur der Anfangsteil der Kurve eine gerade Linie dar, solange nämlich die Blutmengen noch so gering sind, dass die Hämolyse komplet ist.

Wächst aber die Blutkonzentration weiter, so tritt nach kurzem Ansteigen der Punkt ein, wo das gesamte »Toxin« (NH_3 später als NaOH) gebunden ist, und die Kurve wieder absinkt. Die Form dieses Maximums ist bald spitzer, bald flacher, was von der verschiedenen Festigkeit der Bindung an die Blutkörperchen abhängt. Diese Details über die Wirkung verschiedener anorganischer einfacher »Toxine« interessieren uns hier nicht.

Sehr wichtig ist nun aber, dass dieses Maximum beim Tetanolysin fast völlig fehlt, resp. nicht sicher erkennbar ist. Andererseits liegt

---

[1]) Arrhenius & Madsen benennen die blutlösenden Agentien mit dem Sammelnamen »Toxine«, während sie das spezifische Haptin »Lysin« nennen. Diese Anwendung des Begriffes Toxin, die der jetzt glücklich erreichten Beschränkung auf Haptine nicht folgt, ist leider geeignet, Verwirrung zu stiften.

dieses schwache Maximum schon bei einer viel geringeren Blutkonzentration als bei NH_3 u. s. w. Daraus folgt einerseits, dass die Bindung des Tetanolysins an die Blutkörperchen eine sehr viel schwächere ist, als die der anorganischen Agentien, dass sie aber andererseits so langsam eintritt, dass auch noch der Anteil wirksam ist, der noch verankert werden könnte, während bei den Bindungen von NH_3 u. s. w. die Ankuppelung so schnell erfolgt, dass eben nur der thatsächliche Ueberschuss an »Toxin« zur Wirkung gelangt.

Dieses Ergebnis, dass das Tetanolysin zu den Rezeptoren der Erythrocyten eine so schwache Affinität besitzt, könnte man als Waffe gegen die allgemeine Lehre der spezifischen Bindung benutzen.

Wir werden auf diese Frage der schwachen Bindung bei der Diskussion der Beziehungen zum Antitetanolysin zurückkommen.

Reaktionsgeschwindigkeit der Hämolyse.

Die Messung der Reaktionsgeschwindigkeit ist eines der wichtigsten Mittel, um näheren Aufschluss über das innere Wesen chemischer Vorgänge zu gewinnen. Arrhenius & Madsen maßen die Zeit, innerhalb deren die Hämolyse bis zu einem bestimmten Punkte vorschreitet.

Zu diesem Zwecke ließen sie einen Ueberschuss von »Toxin« eine bestimmte Zeit auf gleiche Blutmengen (die gleich 100 gesetzt werden) einwirken; durch Abkühlen wurde die Hämolyse unterbrochen, zentrifugiert und der Grad der Hämolyse bestimmt. Da die Menge der gelösten Blutkörper in der Zeiteinheit abhängig ist von der Zahl der noch vorhandenen (100 — x) ungelösten, so gilt folgende Gleichung:

$$1. \quad \frac{dx}{dt} = K\,(100 - x)$$

oder integriert

$$2. \quad \ln \frac{100 - x_0}{100 - x_1} = K\,(t_1 - t_0)$$

Der Versuch zeigte nun, dass K nicht konstant ist, sondern während der Dauer des Versuchs sehr rasch anwächst. Das wird daraus erklärt, dass die Membranen der Blutkörperchen zunächst dem Eindringen des Toxins einen Widerstand entgegensetzen, welcher mit der Zerstörung der Membran immer kleiner wird.

Es werden zunächst überhaupt keine Blutkörper angegriffen, sondern die Hämolyse tritt erst dann in die Erscheinung, wenn die ersten, am wenigsten widerstandsfähigen Membranen nachgeben. Es ist also eine aus dieser Widerstandsfähigkeit folgende »Induktionszeit« der Hämolyse notwendig, die hier in diesen Fällen sehr leicht erklärlich ist.

Diese Methode gab deshalb keine zuverlässigen Werte. Die Verfasser prüften deshalb, ob die doppelte Menge »Toxin« in der halben

Zeit dieselbe Wirkung hat, wie die halbe in der doppelten Zeit. Es ergab sich, dass, nach Anbringung der nötigen Korrekturen für Veränderung des Volums, dieses Verhältnis annähernd existiert, d. h. dass die Reaktionsgeschwindigkeiten proportional den Toxinkonzentrationen sind. Das gilt für NH_3, NaOH, und Tetanolysin.

Für die Menge umgewandelter Blutkörperchen ergiebt sich wenigstens für geringe Grade (wo x also klein ist) die Beziehung (a = Toxinmenge)

$$\frac{dx}{dt} = Ka\sqrt{x},$$

nach Integration

$$\sqrt{x} = 2Kat$$

in Worten: die hämolysierte Menge Blut ist nicht nur dem Quadrat der Reaktionszeit, sondern auch dem Quadrat der Toxinmenge proportional, eine bereits ganz oben empirisch festgestellte Thatsache.

Die Zunahme der Reaktionsgeschwindigkeit mit der Erhöhung der Temperatur beträgt für 10° bei NH_3 und bei NaOH 2,76 : 1, bei Tetanolysin 3,04 : 1. Die relative Reaktionsgeschwindigkeit von NH_3 : NaOH beträgt 2,24 : 1. Sie ist also durchaus unabhängig von der Konzentration der OH-Ionen. Es sind also nicht die OH-Ionen, die das eigentlich wirksame Agens der Hämolyse darstellen.

Neutralsalze der Alkalien hemmen die Wirkung der zugehörigen Basen stark. Die Wirkung des Salzes wächst ungefähr entsprechend der Kubikwurzel aus seiner Menge. Besonders stark wirken Ammoniumsalze hemmend. Auf die Wirkung des Tetanolysins haben Salze (nur in größeren Mengen) einen verstärkenden Einfluss. Normales Blutserum und Eieralbumin hemmt die Wirkung der »Toxine«, besonders stark aber die des Tetanolysins. Wir haben also auch hier die Hemmung der aktiven Stoffe durch das normale Blutserum, die bei den Fermenten eine so große Rolle spielt. Es wird sich wohl auch hier um das Vorkommen von normalen Rezeptoren als Antikörper handeln.

Beziehungen zwischen Toxin und Antitoxin.

Diese Versuche wurden von Arrhenius & Madsen am Tetanolysin angestellt. Die Methode ist eine Erweiterung der oben geschilderten Ehrlichschen Methode der inkompletten Sättigung.

Die Verfasser setzten zu einer stets gleichbleibenden Toxinmenge (2 cm^3 einer 2 proz. Tetanolysinlösung) steigende Mengen Antitoxin (in 0,0025 proz. Lösung) und prüften die Toxizität dieser Mischung, d. h. die Menge, die zu 10 cm^3 2,5 proz. Pferdeblut zugesetzt einen bestimmten Grad der Hämolyse bewirkt. Unter Berücksichtigung der Volumverhältnisse ist die Formel für die Toxizität

$$G = \frac{1}{x} \cdot \frac{10 + x}{10}$$

wenn x die beobachtete toxische Menge ist.

Dabei stellt sich zunächst durch Beobachtung heraus, dass mit zunehmender Antitoxinmenge die nötige Menge x stetig wächst, und dementsprechend G stetig abnimmt. Es liegt also beim Tetanolysin kein Grund vor ein treppenförmiges »Giftspectrum« (siehe oben) anzunehmen. Im Gegenteil folgen die Beziehungen zwischen Toxin und Antitoxin einer stetigen Kurve. Diese Kurve ist sehr ähnlich der, die das Gleichgewicht zwischen einem teilweise dissoziierten Körper und seinen Dissoziationsprodukten darstellt. Es besteht also zwischen freiem Toxin und Antitoxin einerseits und ihrer Verbindung andererseits ein Gleichgewichtszustand, so dass alle drei Komponenten vorhanden sind. Dies weicht von der EHRLICHschen Grundanschauung gerade so ab, wie wir es oben für die Bindung Lysin—Zelle angeführt haben. Denn EHRLICH nimmt für das Diphtheriegift eine feste Bindung Toxin—Antitoxin an, so dass nur der reelle Ueberschuss der einen Komponente wirksam sein soll. Wir werden darauf unten zurückkommen.

ARRHENIUS & MADSEN haben diese Beobachtungen auch noch durch eine theoretische Berechnung von G und x ergänzt. G folgt aus dem Ansatz:

$$1.\quad \frac{\text{Freies Toxin}}{\text{Vol.}} \cdot \frac{\text{Freies Antitoxin}}{\text{Vol.}} = K\left(\frac{\text{Toxin — Antitoxinverbindung}}{\text{Vol.}}\right)^2$$

Die Menge des freien und des gebundenen Toxins lässt sich auf einem komplizierteren Wege berechnen: Als Einheit der Toxinmenge wird die angenommen, die in 1 cm^3 einer 1proz. Lösung enthalten ist. Nun enthalte die ursprüngliche Mischung von Toxin mit 10 cm^3 Blut (ohne Antitoxin) pro cm^3 0,23 : 10,23 Einheiten. In einem Versuch mit Antitoxin müssen x cm^3 zugesetzt werden um dieselbe Farbennuance zu erhalten, d. h. um zu bewirken, dass dieselbe Menge freies Lysin vorhanden ist. Dann ist das vom Antitoxin gebundene Toxin gleich der Differenz zwischen zugefügtem und freiem Toxin $= x : (10 + x) — 0,23 : 10,23$ und ebensogroß natürlich die gebundene Antitoxinmenge. Die Menge des zugesetzten Antitoxins (n) ist auf 4 cm^3 Lysinlösung verteilt, jeder Einheit des Toxins entspricht also $\frac{n}{4}$ cm^3 Antitoxin. Ist nun die Relation von Antitoxin zu Toxin in $cm^3 = p$, d. h. sättigt 1 cm^3 Antitoxin p cm^3 1 % Lysinlösung ab, so ist

$$\frac{4}{n} \cdot \frac{x}{10 + x} \cdot p \text{ die Antitoxinmenge pro } cm^3.$$

Davon ist die bekannte gebundene Antitoxinmenge abzuziehen, wenn man das wirksame freie Toxin berechnen will. Es ergiebt sich also in die Gleichung 1. eingesetzt:

$$2.\quad \frac{0{,}23}{10{,}23}\left[\frac{n}{4}\cdot\frac{x}{10+x}\,p-\left(\frac{x}{10+x}-\frac{0{,}23}{10{,}22}\right)\right]=K\left(\frac{x}{10+x}-\frac{0{,}23}{10{,}23}\right)^2.$$

K und p lassen sich aus den Durchschnittszahlen der Sättigungsversuche annähernd berechnen, und zwar ist nach 12 Versuchen

$$K = 0{,}115 \qquad p = 14{,}55\,,$$

d. h. 1 cm^3 des gebrauchten 0,0025proz. Antitoxins neutralisieren 14,55 cm^3 der willkürlichen Toxineinheit, oder diese Einheit entspricht 0,069 cm^3 Antitoxin.

Wenn man aus dieser Gleichung G und x berechnet, findet man eine sehr gute Uebereinstimmung mit den beobachteten Werten.

Das Gleichgewicht zwischen Toxin und Antitoxin wird bei großen Antitoxinmengen sehr langsam erreicht. Gleichzeitig tritt dann eine Schwächung des Toxins ein, so dass x größer wird.

In derselben Weise gestaltete sich der entsprechende Versuch, bei dem das Toxin durch Ammoniak, das Antitoxin durch Borsäure ersetzt wurde. Auch hier trat die neutralisierende Wirkung der Borsäure in dem Grade ein, dass das Gesetz galt:

(freies NH_3) (freie Borsäure) = K (gebundene Borsäure)^2.

Aus diesen Versuchen folgt also, dass für das Tetanolysin und seine Absättigung durch sein Antitoxin ganz ähnliche Gesetze gelten, wie sie beim Absättigen von Basen mit schwachen Säuren gelten. Es bleiben stets Anteile der freien Komponenten übrig.

Daraus werden nun Angriffe auf die Ehrlichsche Lehre von den Giftspektren abgeleitet.

Wenn man die Kurve der Absättigung von Ammoniak durch Borsäure konstruiert, so findet man, dass die erste zugesetzte Menge 1 50% NH_3, die zweite Menge 1 nur noch 16,7%, die dritte Menge 1 noch 8,3% des Ammoniaks absättigt und könnte daraus den Schluss ziehen, dass die erste Absättigungsquote ein sehr viel toxischeres NH_3 trifft als die späteren; d. h. das Ammoniak bestände aus verschieden toxischen Anteilen, die mit verschiedener Avidität gebunden werden, und deren Avidität in einfachen Verhältnissen steht. Man sieht, dass hiermit die Ehrlichschen Ausführungen über Proto-, Deutero- u. s. w. Toxine getroffen werden.

Man darf also nach M. u. A. für das Tetanolysin nicht die Verhältnisse als Analogieen benutzen, die sich bei Absättigung starker Basen und Säuren herstellen, wie dies Ehrlich für das Diphtheriegift gethan hat. Bei starken Säuren und Basen ist die Menge der freien Komponenten außerordentlich klein, es ist praktisch nur die Verbindung und der Ueberschuss der einen Komponenten in Wirksamkeit. An diesem Maßstab gemessen, weicht also die Sättigungskurve des Diphtheriegiftes, wie Ehrlich gezeigt hat, sehr beträchtlich von der einfachen Kurve

der Säure-Base-Sättigung ab und legt die Existenz verschieden giftiger Anteile nahe. Nimmt man aber die bei schwacher Avidität eintretenden Gleichgewichtszustände zum Maßstab, wie sie beim Tetanolysin vorhanden sind, so sind diese scheinbaren Aviditätsverschiedenheiten ohne Annahme verschiedener Toxinzonen auf Grund des Massengesetzes zu erklären. Es braucht nur ein Toxin und nur ein Antitoxin zu existieren, die bei ihrer gegenseitigen Absättigung verschiedene Gleichgewichtszustände durchmachen, die hinreichen, um die zahlenmäßigen Bindungsverhältnisse zu erklären, zu erklären, warum die Menge des Antitoxins nicht stets der gleichen antitoxisch wirkenden Energie entspricht.

Diese Ausführungen würden, wenn sie auch für andere Gifte als das Tetanolysin Geltung fänden, zwar einen nicht sehr erheblichen Teil der EHRLICHschen Anschauungen reformieren, aber gleichzeitig und auf exakt wissenschaftlichem Wege in der Kenntnis dieser außerordentlich wichtigen Vorgänge weiterführen. Neben diesen Angriffen auf die EHRLICHschen Anschauungen sind nun fast gleichzeitig noch andere Stimmen laut geworden, die gegen fast dieselben Ideen EHRLICHS Front machen.

Vor allem ist hier die kürzlich erschienene Arbeit BORDETS[1]) zu nennen, der auf Grund theoretischer Vorstellungen auch dahin gelangt, eine Art von Gleichgewichten zwischen Toxin und Antitoxin anzunehmen.

Freilich stützen sich diese Ideen nicht auf exakte physikalisch-chemische Messungen, sondern sind rein spekulativ. Die Beziehungen zwischen Toxin — Antitoxin sollten entweder gewisse Analogieen mit den Vorgängen bei der Färbung (Insorption u. s. w.) zeigen, die er aber gar nicht näher präzisiert — direkte Identitätsbeziehungen lehnt er geradezu ab —; oder aber es sollten sich komplexe Verbindungen von einem Toxinmolekül mit mehreren Antitoxinmolekülen ausbilden. Das Antitoxin soll sich so über die ganze Toxinmenge verteilen, dass je ein Teil jedes Toxinmoleküls abgesättigt und seiner Giftigkeit beraubt erscheint. Im großen und ganzen sind diese Spekulationen, die nicht auf neuen Thatsachen beruhen, theoretisch ebenso, wenn nicht schwieriger vorzustellen, als die EHRLICHschen Spectra, die wenigstens auf Grund einer, wenn auch komplizierten, Hypothese alle Thatsachen erklären.

Im übrigen will die BORDETsche Annahme eines »teilneutralisierten« Toxins absolut nicht einleuchten, wenn man nicht auf die alte, glücklich abgethane »Zerstörung« der Giftigkeit zurückgreifen will.

So wird denn wohl der BORDETsche Angriff auch nicht geeignet sein, die EHRLICHsche Lehre von der Pluralität der Gifte zu stürzen.

Noch weniger haben die verschiedenen Angriffe GRUBERS die EHRLICH-

---

[1]) BORDET, Sur le mode de l'action des antitoxines sur les toxines. Ann. Past.. XVII, 161 (1903). S. A.

sche Position erschüttern können, obwohl sie nichts weniger als den Sturz der gesamten Seitenkettentheorie beabsichtigten. Sie haben von EHRLICH[1]) eine so gründliche Widerlegung und Abfertigung gefunden, dass wir an dieser Stelle darauf verzichten können, sie einzeln durchzusprechen.

Viel wichtiger erscheinen auf den ersten Blick die auf einwandfreie Versuche gestützten Einwände von ARRHENIUS & MADSEN gegen EHRLICHS Annahme von der Vielfältigkeit des Diphtheriegiftes.

Indessen zeigt sich auch hier, dass man auf dem Gebiet der Toxinlehre sich vor nichts mehr hüten muss, als vor zu schnellen Verallgemeinerungen.

EHRLICHS[2]) Erwiderung auf die ARRHENIUS-MADSENsche Arbeit, die soeben erschienen ist, hält seine Position durchaus aufrecht.

EHRLICH giebt natürlich die Richtigkeit der gegnerischen Befunde ohne weiteres zu, aber eben nur für das Tetanolysin, dessen Unbeständigkeit und langsame Bindung er selbst schon vor Jahren erkannt hat. Er führt einen Versuch an, nach dem die Antitoxinwirkung nach 2 Stunden 40mal so groß war, als unmittelbar nach der Mischung.

EHRLICH bestreitet aber, dass die Feststellungen an diesem unbeständigen und langsam bindenden Gift auf das sehr intensiv und schnell, nach wenigen Minuten sich an das Antitoxin bindende Diphtheriegift übertragen werden dürfen, für das allein seine Spectra aufgestellt sind.

Er wiederholt in seiner Entgegnung mit großer Eindringlichkeit nochmals die Gründe, die ihn zur Entwicklung seiner Auffassung von der komplexen Struktur des Diphtheriegiftes geführt haben, unter Anführung zahlreicher, zum Teil bisher unveröffentlichter Einzelthatsachen.

Es würde daher zu weit führen, alle seine Gründe nochmals zu besprechen, da wir fast unsere gesamten Ausführungen über Toxoïde und Toxone wiederholen müssten. So sei nur weniges daraus hervorgehoben:

Die Annahme von Toxoïden verschiedener Avidität folgt mit Notwendigkeit aus dem allmählichen Absinken der Toxizität unter konstantem Erhaltenbleiben der Sättigungsgröße gegen Antitoxin. EHRLICH zeigt an dem einfachen Beispiel der Absättigung eines Gemisches zweier verschiedener Alkaloïde, z. B. Chinin und Codeïn, die verschiedene Avidität gegen Salzsäure haben, dass hier ganz analoge Sättigungsgrenzen eintreten, wie sie ARRHENIUS & MADSEN als Gleichgewichte zwischen schwachen Basen und Säuren auffassen. Die Kurve kann bei richtiger Mischung der Alkaloïde eine ganz ähnliche Form annehmen.

---

[1]) EHRLICH, Toxin und Antitoxin. Münch. med. Woch., 1903, Nr. 33/34. S. A.

[2]) EHRLICH, Ueb. d. Giftkomponenten des Diphtherietoxins. Berliner klin. Woch., 1903, Nr. 35, S. A.

Die Protoxoide lassen auch Arrhenius & Madsen gelten, Ehrlich zeigt aber zahlenmäßig, dass auch andere Toxoïde existieren müssen.

Es gelangt ihm ferner, an einem bestimmten Gift durch die Berechnung der L_+-Dosis nachzuweisen, dass hier die Absättigung Toxin: Antitoxin genau so erfolgt, wie die einer starken Base durch eine starke Säure, d. h. dass der Verlauf durch eine grade Linie dargestellt werden muss. An demselben Gift ließ sich auch der Nachweis führen, dass in den weniger aviden Teilen des Toxines eine Tritotoxoïdausbildung stattgefunden haben muss.

Des weiteren lässt sich durch einfache Ueberlegungen der Beweis führen, dass bei der Umwandlung von Toxin in Toxoïd keine Aviditätsänderung statthaben kann.

Da aber nun nach erfolgter Einstellung des Giftes im Ruhestadium verschiedene Aviditäten vorhanden sind, so müssen diese schon im frischen Gift, im Toxinstadium vorhanden gewesen sein, womit die Pluralität der Gifte erwiesen erscheint.

Ehrlich hält also durchaus daran fest, dass schon im frischen Diphtheriegift Giftvarietäten verschiedener Avidität vorhanden sind, die nachher zum Teil in Toxoïde verschiedener Avidität übergehen.

Auch die Existenz der Toxone als primärer Nebenprodukte der Thätigkeit des Diphtheriebacillus, die Arrhenius & Madsen angezweifelt hatten, hält Ehrlich durchaus aufrecht. Besonders zeigt der Fall eines Giftes ohne Toxone, dass es sich hier nicht um einen »nicht abgesättigten Giftrest« handeln kann, sondern um meist vorhandene, selbständige Stoffe mit geringer Avidität zum Antitoxin; denn wenn es sich um Gleichgewichte handelte, müssten diese bei allen Giften vorkommen. Abgesehen von diesem wichtigen Grenzfall ohne Toxone spricht dagegen auch die ungeheuer große Amplitude in der relativen Menge der Toxone, die von 0—300 % variieren kann.

Für ihre reale Existenz spricht ferner das häufige Abnehmen der Toxone, die »Toxonoïdbildung«, sowie ihre durchaus verschiedene physiologische Wirksamkeit (s. o.).

Ehrlich schließt aus seinen Ausführungen, dass das Diphtheriegift aus mindestens drei Giftvarietäten besteht:

1. das Toxin,
2. das Toxon (das Kaninchen akut, Meerschweinchen unter Lähmungen tötet),
3. Toxonoïde (bei Kaninchen Lähmungen erzeugend, für Meerschweinchen unschädlich).

Ferner hält er aufrecht, dass die Avidität des Diphtherietoxins zu seinem Antitoxin eine hohe ist, so dass die Absättigungskurve des Reintoxins eine gerade Linie darstellen würde; die Abweichungen sind nur durch Annahme verschieden avi-

der Anteile zu erklären. Diese verschieden aviden Anteile sind im Gifte präformiert.

Sehr nahestehend den auf ihre experimentellen Befunde gestützten Annahmen von ARRHENIUS & MADSEN sind die theoretischen Erörterungen von EISENBERG[1]. Auch er neigt dazu, die Neutralisation von Gift und Gegengift als Herbeiführung eines Gleichgewichtszustandes zu erklären, bei dem außer der festen neutralen Verbindung noch ein Ueberschuss jeder der beiden aktiven Komponenten vorhanden ist. Er hofft, mit dieser Annahme die Schwierigkeiten beseitigen zu können, die bei dem Vorhandensein nur der Verbindung mit dem Ueberschuss einer Komponente sich ergeben. Indessen beruht seine Argumentation ebenfalls auf den Verhältnissen anderer Gifte wie der Diphtherie, so des Tetanusgiftes, der hämolytischen Komplemente und vor allem der Agglutinine. Dass bei diesen Stoffen lockere Verbindungen mit dissoziierten Gleichgewichtszuständen vorhanden sein können, ist sehr wahrscheinlich. Aber für das Diphtheriegift scheinen nur die Bindungsverhältnisse in Kraft zu sein, die auch EISENBERG als möglich voraussetzt, dass nämlich die Menge der freien, dissoziierten Komponenten sehr gering ist, wie es eben bei festen Verbindungen erforderlich ist. So gelten EHRLICHS Auseinandersetzungen auch in Bezug auf diese Verallgemeinerungen, die sich eben auf das Diphtheriegift nicht beziehen.

Es sind darum bei anderen Giften die Verhältnisse durchaus nicht im vornherein klargestellt: die Frage der Bedeutung der etwa vorhandenen Dissoziationen, der quantitativen Beziehungen zwischen Toxin—Antitoxin muss an jedem einzelnen Gift aufs neue geprüft werden. Vermutlich wird sich eine ganze Skala von Aviditäten ergeben, die von ganz lockeren, stark dissoziierten Verbindungen, wie sie beim Tetanolysin vorhanden zu sein scheinen, zum Diphtheriegift führen. In diesem Sinne sei noch erwähnt, dass auch beim Ricin scheinbar Gleichgewichtszustände vorhanden sind, bei denen in der Nähe des völligen Neutralitätszustandes freies Toxin neben freiem Antitoxin sich findet, wie sie DANYSCZ[2] beschrieben hat, der daran allerdings ganz unhaltbare, den BORDETschen ähnliche Spekulationen geknüpft hat. Auf die Thatsachen werden wir beim Ricin zurückkommen. Man darf aber, wie EHRLICH immer wieder mit vollem Recht betont, nie vergessen, dass gerade bei diesen schwachen Bindungen einerseits die Konzentration, andererseits aber auch die Zeit der gegenseitigen Berührung eine sehr gewichtige Rolle spielt. Durch eine zu kurz bemessene Reaktionszeit kann also bei langsam sich verbindenden Komponenten ein zu hoher Dissoziations-

[1] M. EISENBERG, D. Bindungsverh. zwischen Toxin und Antitoxin. C. f. Bakt., 34, 259 (1903).

[2] DANYSCZ, Contr. á l'étude des propr. des melanges des toxines avec leurs antitox. Ann. Past., XVI, 331 (1902).

grad vorgetäuscht werden. Wenn EISENBERG also als Beweismittel die Dissoziation von Schlangengift-Antitoxin bei höherer Temperatur anführt, so sei daran erinnert, dass nach MARTIN und CHERRY eben diese Dissoziation, die zur sekundären Zerstörung des Antitoxins führt, nur sehr kurze Zeit nach der Mischung noch möglich ist.

Zum Schluss sei noch erwähnt, dass auch in Bezug auf andere Haptine die Massengesetzüberschätzung nicht zu weit getrieben werden darf. Im Gegensatz zu EISENBERG, der für Agglutinine und Präzipitine dissoziierte Gleichgewichtszustände als Regel annimmt, weist v. DUNGERN[1]) nach, dass solche Zustände ganz inkonstante Ausnahmen sind, und dass im allgemeinen die Verbindung Präzipitin — präzipitable Substanz eine komplette, feste ist. Zur Erklärung der quantitativen Verhältnisse nimmt er, ganz analog den EHRLICHschen Ansichten, eine Pluralität der Präzipitine an.

Wärmetönung der Toxin-Antitoxinwirkung.

Mit Hilfe der VAN T'HOFFschen Formel

$$\frac{d \log nat K}{dt} = \frac{W}{1{,}99 T^2}$$

konnten ARRHENIUS & MADSEN aus der Aenderung der Dissoziationskonstante K die Wärmetönung berechnen, die bei der Bindung von 1 Grammmolekül Toxin mit 1 Grammmolekül Antitoxin in Freiheit gesetzt wird.

Diese Zahl ist = 6600 Cal (mit einer Unsicherheit von 600 Cal).

Diese Wärmeentwicklung ist fast halb so groß wie die bei der Absättigung einer starken Base mit einer starken Säure.

Die Endotoxine und die Bakterienproteïne.

Die Endotoxine.

Während die Produktion und Wirkungsart der echten Toxine, wie sie Diphtherie- und Tetanusbazillen bilden, genauer bekannt sind, liegen die Dinge bei einer großen Reihe von Krankheitserregern, als deren Hauptvertreter wir die Bakterien der Cholera, des Typhus und den Bac. pyocyaneus zu bezeichnen haben, wesentlich anders und komplizierter.

Filtriert man eine nur wenige Tage gewachsene Cholerakultur durch Bakterienfilter, so ist das Filtrat nur in sehr schwachem Maße toxisch. Es bedarf mehrerer cm^3 intraperitoneal, um ein Tier zu töten, und selbst in diesen Mengen sind die Filtrate nicht für alle Tiere tödlich.

---

[1]) v. DUNGERN, Bindungsverh. bei d. Präcipitinreaktion. C. f. Bakt., 34, 355 (1903).

Nimmt man aber den Rückstand des Filtrats, also die abfiltrierten Bakterienkörper, und tötet diese durch gelinde Desinfektionsmittel, z. B. Chloroform, ab, so zeigt sich, dass diese abgetöteten Bazillenleiber eine hochgradige Toxizität besitzen. Einige Milligramme dieser Bakterienleiber genügen, um ein Tier bei intraperitonealer Einverleibung akut zu töten, unter schweren Kollapserscheinungen. Es ist also hier das Verhalten umgekehrt wie bei den Diphtheriebazillen, indem in die Lösung anfangs weniger Gift übergeht, dagegen die toten Bakterienleiber sehr stark giftig sind. Nimmt man nicht ganz frische, sondern alte Bouillonkulturen, die mehrere Wochen lang im Brutschrank gestanden haben, so zeigt sich eine beträchtliche Zunahme der Giftigkeit an den keimfreien Filtraten. Schon kleinere Dosen genügen, um die Versuchstiere zu töten. Doch erreicht auch unter diesen Umständen die Giftigkeit dieser Filtrate niemals ähnliche Werte, wie sie bei Diphtherie- und Tetanusgift vorkommen, wo schon Bruchteile von Milligrammen tödlich wirken können.

Die Deutung dieser experimentellen Ergebnisse bietet keine Schwierigkeiten: offenbar haben die Cholerabazillen u. s. w. den größten Teil ihres Giftes in ihrer Leibessubstanz aufgespeichert. Dieser Teil wird nur frei, wenn die Bakterien zerstört, aufgelöst werden, wie es im Tierkörper durch die Säfte geschieht und bei älteren Kulturen spontan vorkommt, indem hier eine Menge von Bazillenleibern durch die alkalischen und sonstigen Produkte der alten Kulturen aufgelöst werden; daher kommt die oben erwähnte Thatsache, dass in alten Kulturen das Filtrat viel toxischer wird, eben infolge dieses Auslaugungsprozesses, als bei jungen Kulturen.

Fragen wir uns nun, welche Stellung diese Gifte nach unserer Definition einnehmen: ob sie *echte Toxine* sind, gegen die der Organismus Antitoxine bildet, so ist dabei folgendes festzustellen:

Gegen die in den Bazillenleibern enthaltenen Gifte, die *Endotoxine*, ist es bisher *nicht* gelungen, ein echtes Antitoxin zu erzeugen. Demgemäß müssen wir bis auf weiteres diesen Giften eine eigenartige Stellung einräumen. Sie lassen sich ausschließlich charakterisieren eben durch ihre hohe Giftigkeit im Tierversuch. Der für ihre Zugehörigkeit zu den echten Toxinen ausschlaggebende Nachweis dagegen, dass sie getrennte haptophore und toxophore Gruppen besitzen, ist bisher nicht zu erbringen gewesen.

Anders steht es mit den Giften, die beim Filtrieren in das Filtrat übergehen. Für diese ist es gelungen, ein echtes antitoxisches Serum zu gewinnen, und zwar Ransom, sowie Roux und Metschnikoff für die *Cholera*, A. Wassermann für den *Pyocyaneus* (s. dort). Es geschah dies in der allgemeinen üblichen Weise durch Vorbehandlung der Versuchstiere mit steigenden Dosen der giftigen Filtrate. So erhielt man

Sera, die die mehrfach tödliche Dosis der giftigen Filtrate sicher zu neutralisieren vermochten.

Demnach ist bei diesen Bakterienarten auf Grund der bisherigen Versuchsergebnisse das Verhältnis ein derartiges, dass der Hauptteil der giftigen Substanz in den Bazillenleibern fest haftet und nicht in die Lösungen übergeht. Dies sind die *Endotoxine*, vergleichbar den *Endoenzymen* der Hefe und der Bakterien selbst.

Außerdem treten geringe Mengen eines *echten Toxins* auf, die in das Filtrat übergehen.

Die weitere Frage ist nun die, ob wir berechtigt sind, aus diesen Versuchen zu folgern, dass auch unter natürlichen Verhältnissen, also im Organismus, die Giftproduktion in derselben Weise sich gestaltet.

Das scheint mit ziemlicher Sicherheit zu verneinen zu sein.

Vielmehr ist es sehr wahrscheinlich, dass die geringen Spuren des Giftes, welche wir in diesen Kulturfiltraten finden, und die, wie wir sahen, bei zunehmender Auslaugung in alten Kulturen an Menge etwas zunehmen, nicht das *primäre* Gift der Erreger darstellen, das wir in der Pathologie dieser Infektionskrankheiten beim Menschen in Wirksamkeit treten sehen. Der Auslaugungsprozess, wie er sich spontan in alten Kulturen vollzieht, ist *durchaus nicht* ein in die Konstitution dieser labilen Körper wenig eingreifender. In derartigen alten Kulturen kommen plötzliche starke Veränderungen der Reaktion von Säure zu starkem Alkali vor: es bilden sich Ammoniakverbindungen und andere chemische Stoffe, von denen wir wissen, dass sie auf die Bakteriengifte ändernd und zerstörend einwirken. Demnach dürfen wir annehmen, dass selbst diese in die Lösungen übergehenden geringen Mengen des *Choleragiftes u.s.w., gegen die man ein Antitoxin erzeugen kann*, bereits nicht mehr die *primären* Gifte dieser Mikroben darstellen, die sie sicher im menschlichen Organismus bilden, sondern vielmehr eine sekundäre und beständigere Modifikation, und zwar gründen wir uns dabei darauf, dass, wie WASSERMANN beim Pyocyaneus fand, man gegen dieses gelöste Gift zwar sicher Antitoxin erzeugen kann; dass aber dieses Antitoxin sich doch anders verhält wie bei der *Diphtherie*. Denn diese Antitoxine neutralisieren die entsprechende Toxinmenge in beliebig vervielfachten Dosen, wenn man ihre eigene Quantität in derselben Weise vervielfältigt. Wenn also 10 Dosen Diphtherieantitoxin 10 Dosen Toxin absättigen, so sättigen 1000 Dosen 1000 Dosen Toxin. Beim Pyocyaneus gilt dieses »Gesetz der Multipla« nur innerhalb sehr enger Grenzen, bis etwa zu der 8—10fachen Dosis letalis. Darüber hinaus geht die Neutralisierung nicht: die Tiere sterben trotz großer Antitoxindosen.

Demnach müssen wir dahin resümieren, dass es überhaupt zweifelhaft ist, ob wir das *primäre, echte* Toxin der Cholera u. s. w. bei der Verwendung unserer bisherigen Kulturmedien überhaupt in Händen gehabt haben; es dürfte eine Frage der geeigneten Nährsubstanzen sein,

und weiterer systematischer Arbeiten bedürfen, um diesem wichtigen Ziel näher zu kommen. Einen wie gewaltigen Einfluss die geeignete Kulturflüssigkeit für die Produktion des echten Giftes in künstlichen Nährmedien besitzt, zeigt das Beispiel des Diphtheriegiftes, von dem nach den ersten Versuchen von Roux und Yersin 30—36 cm^3 erforderlich waren, um ein Tier typisch akut zu töten, und bei welchen man durch systematisch genaues Studium der Nährböden und Auswahl geeigneter Kulturen heute dazu gelangt ist, dass 1—2 mg ausreichen. Demgemäß betrachten wir die Frage des Choleragiftes und der ähnlichen Gifte als eine in vielen Punkten noch offene und nicht gelöste.

Wir wollen indessen nicht verfehlen, darauf hinzuweisen, dass ein experimentell und praktisch in dem Wesen der Cholerainfektion so erfahrener Autor wie R. Pfeiffer den Standpunkt einnimmt, dass auch die bei der spontanen Cholerainfektion des Menschen so auffällig in die Erscheinung tretende Intoxikation hervorgerufen werde durch die Resorption von infolge Auflösung des Choleravibrio in Freiheit gesetzten Giften, den Endotoxinen. Nach seiner Ansicht sind also die Endotoxine das ausschlaggebende Gift bei der Cholera und den analog sich verhaltenden Infektionskrankheiten, wie Typhus u. s. w. Für diese Ansicht, dass bei diesen Infektionskrankheiten nur die Bakterien als solche und das in ihrem Leibe enthaltene Gift in Frage kommen, nicht aber ein wie bei Diphtherie u. s. w. von ihrem Leibe abtrennbares lösliches Gift, dessen Anwesenheit wir andererseits im Menschen, wie oben ersichtlich, nicht völlig in Abrede stellen können, für diese Ansicht sprechen die Erscheinungen, die beim Ablauf dieser Krankheiten und beim Immunisieren gegen diese Bakterien vor sich gehen, und die Stoffe, die sich dabei im Serum vorfinden. Wir sahen nämlich, dass bei Cholera u. s. w. ausschließlich bactericide Stoffe auftreten; solche ausschließlich bactericide Stoffe treten aber, wie Wassermann am Pyocyaneus zeigen konnte, nur bei der Resorption körperlicher Bestandteile der Bakterien auf, während die Toxine stets gleichzeitig antitoxisch und baktericid wirkende spezifische Stoffe im Serum erzeugen.

Anhang: Die Bakterienproteïne.

Wenn man diejenigen Bakterien, die lösliche Gifte produzieren, von diesen möglichst völlig befreit, so bleiben noch die dem Zellleib angehörigen Stoffe zurück. Diese Stoffe haben nun auch noch eine physiologische Wirksamkeit, indem sie an der Applikationsstelle Entzündungen, aseptische Eiterungen und Nekrosen, außerdem geringfügige Allgemeinerscheinungen, wie Fieber, Mattigkeit, Kopfschmerzen u. s. w. erzeugen.

Dieselben Wirkungen haben auch die mit chemischen Methoden aus diesen Bakterienleibern dargestellten eiweißähnlichen Körper, die man

nach dem Vorgang von BUCHNER als Bakterienproteïne bezeichnet. Sie werden nach verschiedenen Methoden dargestellt.

Hauptsächlich benutzt man dazu das Extrahieren mit überhitztem Wasser im Autoklaven, das einfache Auskochen mit Wasser, und das Extrahieren mit verdünnten Alkalien. In neuer Zeit kamen dann jene Methoden dazu, die nach dem Vorgange KOCHS und BUCHNERS die Bakterien erst zermalmten, und zwar in feuchtem oder getrocknetem Zustande, um dann ihren Inhalt, zum Teil mit Zuhilfenahme hydraulischer Pressen, zu gewinnen.

So erhielt man eine große Reihe von Bakterienproteïnen, die zwar in Einzelheiten verschieden, im Grunde doch ähnliche Wirkungen zeigten. Wir werden ihnen im speziellen Teil noch häufig begegnen, wo auch die Hauptarbeiten auf diesem Gebiet citiert sind.

Es erübrigt sich, hier auf diese Proteïne im Detail einzugehen, denn durch die Arbeiten von RÖMER, BUCHNER, SCHATTENFROH, KLEMPERER[1]) und vieler anderer ist zweifellos erwiesen, dass zum mindesten die aus unzerkleinerten Mikroben durch gewaltsame Extraktion isolierten eiweißähnlichen Stoffe absolut keine spezifische Wirkung haben, also als Krankheitsursachen sui generis nicht in Betracht kommen.

Dies gilt aber nur für die aus den Leibern dargestellten Eiweißstoffe an sich in idealer Reinheit. Sie so zu isolieren ist aber in den seltensten Fällen möglich, und zwar nur dann, wenn die Bakterien nur frei lösliche spezifische Gifte produzieren, von denen ihre Leiber völlig getrennt werden können, wie es KOSSEL bei den Diphtheriebazillen gethan hat. Dann bleiben die Proteïne ohne spezifische Wirkungen zurück, wie man sie ganz ähnlich aus den harmlosesten Bakterien gewinnen kann, und wie auch andere körperfremde Eiweißstoffe sich verhalten, die ja ebenfalls sterile Abszesse u.s.w. erzeugen.

Meist aber ist eine radikale Trennung dieser Proteïne im engeren Sinne von den Giften nicht möglich. Bei den meisten Bakterien haften an den Proteïnpräparaten noch Reste der spezifischen Giftstoffe oder ihrer sekundären Produkte, besonders der Endotoxine und ihrer Derivate, so dass dann auch die Proteïnpräparate noch charakteristische Giftwirkungen zeigen, wie es bei Cholera, Typhus, Tuberkulose der Fall ist (s. im speziellen Teil). Hier lässt sich also die reine Proteïnwirkung nicht demonstrieren, sondern nur theoretisch konstruieren.

Ganz zu trennen von diesen Giftwirkungen sind die immunisatorischen Vorgänge, die durch die Zellsubstanzen der Bakterien, sei es der unzerkleinerten Leiber oder chemischer Präparate ausgelöst werden, die Probleme der baktericiden Immunität, die durch die

---

[1]) Lit. s. b. KLEMPERER, Die Beziehg. verschied. B.-G. zur Immunität u. Heilung. Z. f. klin. Med., XX, 165 (1892).

Arbeiten von PFEIFFER & WASSERMANN für Cholera, PFEIFFER & KOLLE für Typhus, KOCH für die Tuberkulose völlig aufgeklärt sind.

Diese Vorgänge haben mit der toxischen Wirkung der Zellproteïne gar nichts zu thun; hier handelt es sich um Einführung von passenden Rezeptoren, die die baktericiden Schutzkräfte, die Lysine, Präzipitine und Agglutinine wachrufen; um Vorgänge, die von der feinen sterischen Konfiguration der Proteïnmoleküle abhängig sind.

Vorläufig kann man mit Sicherheit derartige Rezeptoren nur in den unveränderten Bakterienzellen annehmen, die wie Choleravibrio, Pneumococcus u.s.w. in toto jene destruktiven Prozesse auslösen; andererseits kann man ziemlich sicher sagen, dass gewaltsame Extraktion, also Darstellung chemischer Proteïnpräparate meist jene zarte Atomgruppierung so verändert, dass keine oder sehr schwache bakterieide Reaktion ihrer Einführung folgt, dass vielmehr diese Eiweißstoffe nur dieselben Reaktionen auslösen wie jeder körperfremde Eiweißstoff, d. h. die Bildung spezifischer Präzipitine[1]), die mit den Agglutininen allerdings wohl sehr nahe verwandt sind; sehr wahrscheinlich ist es dagegen, dass bei den etwas schonender dargestellten, wie KOCHS Tuberkulin (s. d.) und bei den BUCHNERschen Plasminen, z. B. des Choleravibrio und des Tuberkelbacillus, sich die spezifischen Rezeptoren erhalten, so dass diese Präparate bakterieide, immunisatorische Prozesse auslösen.

Zusammenfassung.

1. Eine Gruppe von Bakterien erzeugt als freie Sekrete echte Toxine. Nach Abzug dieser löslichen extrahierbaren Gifte bleibt ein reines unspezifisches Bakterienproteïn zurück. Typus: Diphtherie.

2. Eine andere große Gruppe bildet scheinbar nur Endotoxine: echte Toxine, die an die lebende Zelle mehr oder minder fest gebunden sind, also nur in sehr geringem Maße, in unverändertem Zustande vielleicht außerhalb des Körpers gar nicht, sezerniert werden; beim Absterben der Zelle werden sie teilweise frei, teilweise bleiben sie gebunden, oder gehen in sekundäre, giftige Modifikationen nicht mehr toxinartiger Natur über. Bei dieser Gruppe sind also die toten Zellleiber nicht restlos von anderen Giften zu befreien; das reine Proteïn ist nicht in ungetrübter Wirksamkeit zu erkennen. Mit diesen Vorbehalten sind jedoch die Proteïnwirkungen nachzuweisen. Typus: Cholera, Typhus, Pneumococcus.

3. Eine dritte Gruppe bildet vielleicht gar keine echten Toxine, auch nicht intraplasmatisch. Das Zellplasma enthält Gifte anderer Art, die das Bild der Proteïnwirkung trüben. Typus: Milzbrand, Tuber-

[1]) Näheres üb. Präzipitine s. MICHAELIS & OPPENHEIMER, Immunität gegen Eiweißstoffe. Engelmanns Arch., 1902, Suppl.-Bd.

kulose. Möglicherweise hat man bei fortschreitender Erkenntnis Gruppe 2 mit 3 zu vereinigen.

4. Allen Bakterien gemeinschaftlich ist die pyogene Wirkung ihrer Proteïne, die vorwiegend auf ihrer Eigenart als körperfremden Eiweißstoffen beruht und die sich in ganz ähnlicher Weise auch durch körperfremde Eiweißstoffe nichtbakterieller Herkunft erzielen lässt.

Dass jeder fremde Eiweißstoff ein Schädling für den Organismus ist, den er zu bekämpfen sucht, zeigen jene spezifischen Fällungsfermente, die Präzipitine, die nach Einführung jedes fremden Eiweißstoffes im Organismus auftreten. Wie nach der EHRLICHschen Anschauung alle Nährstoffe Rezeptoren finden müssen, um assimiliert zu werden, so werden, und besonders bei abnormer, d. h. subkutaner resp. intravenöser Einführung, jene Rezeptoren gegen die fremden Proteïne mobil gemacht, um sie anzugreifen und unschädlich zu machen.

Dabei tritt dann häufig eine Allgemeinreaktion, Fieber u. s. w., auf. Und hierin liegt der Schlüssel auch für die Wirkung der Bakterienproteïne in idealer Reinheit, abgesehen von etwaigen spezifischen, toxischen Beimengungen.

Spezieller Teil.

I. Die echten Toxine.

Das Diphtherietoxin.

Sowohl an theoretischer Bedeutung, wie auch besonders durch seine Beziehungen zur künstlichen Immunität und Heilserumtherapie ist das Diphtherietoxin das wichtigste unter allen Bakteriengiften. Es repräsentiert für uns so recht den Grundtypus des echten Toxins; an ihm sind zum größten Teile die Untersuchungen angestellt worden, die Licht über die Wirkungsart der Toxine, ihre Beziehungen zur Krankheit und die Bildung von Antitoxinen verbreitet haben. Das Diphtherietoxin ist ein streng spezifisches Gift, das an Tieren genau die gleichen Erkrankungserscheinungen hervorruft, wie die Infektion mit lebenden Diphtheriebazillen sie erzeugt.

Die Erkenntnis, dass die Diphtheriebazillen selbst sich nicht im Körper verbreiten, sondern nur in den Pseudomembranen, resp. an der Impfstelle sich finden, hat schon frühzeitig den Gedanken wachgerufen, dass es lösliche Gifte sind, die die Allgemeinerkrankung erzeugen. Schon in seiner ersten Arbeit hat Löffler[1]) auf die Existenz eines solchen spezifischen Giftes hingewiesen und es später aus Glycerinextrakten isoliert, indem er sie mit Alkohol fällte. Roux & Yersin[2]) gelang dann sein unwiderleglicher Nachweis.

Roux & Yersin fanden, dass eine durch Porzellan filtrierte Kalbsbouillonkultur des Diphtheriebacillus von sieben Tagen, die sich als völlig klar und steril erwies, allerdings erst in ziemlich großen Dosen (35 cm³), typische Intoxikationserscheinungen hervorrief; besonders bei intraperitonealer Injektion. Mit zunehmendem Alter der Kultur stieg ihre Giftigkeit. Eine 42 tägige Kultur tötet ein Kaninchen bei gleicher Dosis (35 cm³) in 5—6 Stunden, gegen einen Zeitraum von 6 Tagen bei der 7 tägigen Kultur, unter Erscheinungen, die der schweren toxischen Diphtherie analog verlaufen. Gleiche Erscheinungen, gleiche Skala der Empfindlichkeit wie bei der Einimpfung lebender Kulturen zeichnen

---

[1]) Löffler, Unters. üb. d. Bedeutg. der Mikroorg. f. d. Entstehg. d. Diphth. Mitt. Kais. Ges.-Amt, II, 1884. — Ders., Der gegenw. Stand der Frage nach der Entsteh. d. Diphth. Deutsche med. Woch., 1890, 81.

[2]) Roux & Yersin, Contribution à l'étude de la diphtherie. Ann. Past., III, 273 (1889); IV, 385 (1890).

auch das Gift aus. Ihre Befunde wurden von KOLISKO & PALTAUF[1]) völlig bestätigt. Sie erhielten Vergiftungen mit Filtraten einer 14tägigen Bouillonkultur. ROUX beobachtete schon die Vernichtung des Giftes durch Erwärmen und hält es für den Enzymen nahestehend. Als solches sollte es ein Sekretionsprodukt der Diphtheriebazillen sein, von ihnen in die umgebenden Medien hinausproduziert werden. Dem schien nun allerdings entgegenzustehen, dass gerade junge, lebensfrische Kulturen relativ wenig Toxin produzieren, während ältere reichere Giftausbeute lieferten. Daraus zog dann GAMALEÏA[2]) den Schluss, dass das Diphtheriegift nicht ein Sekretionsprodukt der Bazillen, sondern ein Bestandteil ihres Zellleibes sei, der von gesunden Bazillen nicht abgegeben würde, sondern erst beim Aelterwerden der Kultur, beim Absterben zahlreicher Bazillen, durch Auslaugung aus ihrem zerfallenden Zellleib extrahiert würde. Dieser Anschauung ist aber vielfach mit Erfolg entgegengetreten worden. Besonders H. KOSSEL[3]) führte den Nachweis, dass das Toxin ein Sekretionsprodukt, nicht ein Zerfallprodukt ist, dadurch, dass er einerseits schon bei ganz jungen, zweitägigen Kulturen bei geeigneten Züchtungsmethoden sehr reichliche Giftproduktion fand, die sogar nach fünf Tagen bereits anfing schwächer zu werden, und dass er andererseits zeigt, dass in den Bazillenleibern selbst nur sehr wenig Toxin vorhanden ist.

Er züchtete Diphtheriebazillen auf einer möglichst großen Oberfläche, indem er von der Oberflächenhaut einer eintägigen Kultur abimpfte; nach einigen Tagen stellten die Bazillen eine zusammenhängende Haut dar, von der er die Bouillon abgoss. Die Bazillenleiber wurden mehrfach mit destilliertem Wasser gewaschen und zentrifugiert, bis das ablaufende Wasser keine Biuretreaktion mehr gab; dann wurden sie mit schwach alkalischem Wasser ausgelaugt. Die Giftigkeit dieses Extraktes war gering. ARONSON[4]) erhielt allerdings aus den Bazillenleibern nach sorgfältigem Zermahlen und Ausziehen mit Aether-Alkohol (4 : 1) durch Extraktion mit einer 0,1proz. Lösung von Aethylendiamin giftige Extrakte, aus denen er durch Essigsäure das Gift ausfällen konnte. Daneben bleibt freilich den ausgelaugten Leibern nach BRIEGER & BOER[5]) eine bedeutende Giftigkeit, die sich aber ganz anders äußert als die des Toxins, keine Immunität erzeugt u. s. w.

Das Diphtherietoxin ist also nicht ein Bestandteil des Bazillenleibes, sondern ein Stoffwechselprodukt. Was die Darstellung des

---

[1]) KOLISKO & PALTAUF, Zum Wesen des Croup und der Diphtherie. Wiener klin. Woch., 1889, Nr. 8.

[2]) GAMALEÏA, Les poisons bactériens. Arch. de méd. expér., 1892.

[3]) H. KOSSEL, Zur Kenntnis d. Diphtheriegiftes. Centralbl. f. Bakt., XIX, 977 (1898).

[4]) ARONSON, Zur Biologie und Chemie der Diphtheriebazillen. Arch. f. Kinderheilkunde, 30, 23 (1900). S. A.

[5]) BRIEGER & BOER, Ueb. d. Toxine d. Diphtherie u. s. w. Deutsche med. Woch., 1896, 783.

Diphtheriegiftes betrifft, so sind zwei Dinge scharf voneinander zu trennen: einerseits die Auswahl der Methoden, um eine möglichst *reiche Produktion* von Gift zu erzielen, andererseits die Versuche, die man gemacht hat, *aus* der Giftbouillon die spezifischen Körper zu isolieren, und ihrer Natur nachzuforschen, allerdings auch dabei mit dem praktischen Hintergrund, ein möglichst *reines* Gift im trockenen Zustande zu erlangen, für die Zwecke der Immunisierung und Serumtherapie. Bei der Gewinnung giftreicher Flüssigkeiten mussten die Methoden sich auf zwei Kardinalpunkte richten, einerseits eine Lösung mit möglichst hohem Giftgehalt zu erzielen, zweitens diesen Giftgehalt bei der Sterilisierung resp. Trennung von den Bazillen möglichst restlos in die keimfreie Bouillon mitzubekommen.

Für die Produktion des Toxins ist zunächst die Wahl des *Nährbodens* von großer Bedeutung. Roux & Yersin (l. c.) und Löffler (l. c.) haben ihre Bazillen auf einfacher Fleischbrühe gezüchtet, und dabei allerdings, besonders im Jugendstadium der Kulturen, relativ schwache Giftlösungen erhalten. Später wandte man dann ganz allgemein den Zusatz von 2% *Pepton* an. Die Art dieses Peptons ist nach H. Kossel (l. c.) nicht gleichgiltig; er verwendet mit großem Vorteil das Pepton von Dr. Aschmann aus der Luxemburger A.-G. für physiologische Präparate. Auch das Pepton Chapoteaut hat sich als vorzügliches Zusatzmittel erwiesen. Außerdem setzt man allgemein noch 0,5% Kochsalz hinzu. v. Dungern[1]) verwendete mit Vorteil Zusatz von Ascitesflüssigkeit oder kultivierte die Bazillen auf reinem Ascites.

Auch auf eiweißfreien Nährböden soll nach Guinochet[2]) Diphtherietoxin entstehen; er züchtete sie mit gutem Erfolge auf schwach alkalisch gemachtem Harn, ebenso Uschinsky, worauf wir noch zurückkommen werden.

Die Wahl des Nährbodens ist besonders in Bezug auf die *Reaktion* von großer Wichtigkeit. In gewöhnlicher Bouillon ist die Reaktion zuerst schwach alkalisch, wird dann schwach sauer, um zuletzt wieder alkalisch zu werden. Während der Zeit der sauren Reaktion leidet die Giftproduktion sehr erheblich, oder ist ganz sistiert. Deshalb suchte man nach Mitteln, um diese schädliche Säuerung hintanzuhalten. Etwas bessernd wirkt schon der erwähnte Zusatz von 2% Pepton; doch ist dieser allein nicht hinreichend. Park & Williams[3]) haben ganz einfach der 2—4proz. Peptonbouillon durch Zusatz einer gemessenen Menge Natronlauge eine größere Alkalinität verliehen. Sie neutralisierten ihre

---

1) v. Dungern, Steigerung d. Giftproduktion d. Di.-B. Centr. f. Bakt., XIX, 137 (1896).

2) Guinochet, Contribution à l'étude de la toxine des bacilles de la diphthérie. Arch. de méd. expér., 1892, 487.

3) Park & Williams, The production of diphteria toxin. Journ. of exper. med., I, 164 (1896).

frische Bouillon genau (mit Curcumapapier als Indicator) und setzten dann zu jedem Liter 7 cm^3 Normalnatronlauge hinzu, das Gemisch muss dann auf Phenolphtaleïn noch sauer reagieren. Sie selbst, ferner SPRONCK[1]) und VAN TURENHOUT[2]) fanden, dass die Anwesenheit von Glukose und Glycerin in zu frischem Fleisch die Säuerung mitbedinge, und empfahlen deshalb zunächst von dem glykogenreichen Pferdefleisch abzusehen, und SPRONCK, das Fleisch in leicht gefaultem Zustande anzuwenden. Durch künstlichen Zusatz von Glukose konnte er die Toxinproduktion einschränken. Dies entspricht Versuchen von BLUMENTHAL[3]), der ebenfalls fand, dass auf zuckerhaltigen Nährböden, sobald sie mehr als 1% Zucker enthalten, kein Toxin entsteht. Auch auf reinen Eiweißlösungen, sowie reinen Peptonlösungen erzielte er keine Toxine. SMITH[4]) dagegen hält einen geringen Glukosegehalt geradezu für notwendig (0,2%) und will nur die schädliche Säuerung ausschließen, was auch RUETE[5]) durch Zusatz von Marmorstücken zu der Kultur herbeiführen will. Im Gegensatz zu SPRONCK hatte NICOLLE[6]) ganz frisches Fleisch empfohlen. MARTIN[7]) benutzte mit gutem Erfolg eine Mischung von Extrakt aus Ochsen- oder besser Kalbfleisch und einem Extrakt aus Schweinemagen zu gleichen Teilen.

Er giebt folgende Rezepte:

1. Extrakt aus Schweinemagen.

Fünf Schweinemagen werden fein zerhackt oder zerquetscht, dann Mucosa und Muscularis je 200 g mit 10 g reiner Salzsäure (20%) und 1000 g Wasser 24 Stunden bei 50° stehen gelassen. Dann wird aufgekocht, durch lockere Baumwolle filtriert, 0,2% Essigsäure zugesetzt und noch heiß mit Natronlauge neutralisiert, dann wird durch Papier filtriert und im Autoklaven auf 120° erhitzt. Letzteres kann man auch durch mehrmaliges Erhitzen auf 100°, sorgfältiges Entfernen des Eiweißschaumes und Fettes und eventuell Klären mit Chlorcalcium und Natriumphosphat (Bildung eines die Eiweißtrübung mitreißenden Calciumphosphatniederschlages) ersetzen.

2. Fleischextrakt.

Ganz frisches Kalbfleisch 20 Stunden bei 35° stehen lassen, dann 500 g mit 1000 g Wasser 20 Stunden bei 35° stehen lassen, auspressen, Zusatz

---

1) SPRONCK, Sur les conditions, dont dépend la production d. poisons dans les cultures diphtériques. Ann. Past., IX, 759 (1895).

2) VAN TOURENHOUT, Over de bereiding van diphteriegif. Utrecht 1895. Ref. Centralbl. f. Bakt., XVIII, 295 (1895).

3) BLUMENTHAL, Ueb. d. Möglichk. d. Bildg. von Diphtherietoxin aus Eiweißkörpern und auf Zucker enthaltenden Nährböden. D. med. Woch., 1897, Nr. 24.

4) SMITH, The relation of dextrose to the production of toxine. Journ. of exper. med., IV, 373 (1899).

5) RUETE, Ueb. Herstellg. d. Di.-Heilserums. Münch. med. Woch., 1897, 213.

6) NICOLLE, Préparation de la toxine diphtérique. Ann. Past., X, 333 (1896).

7) MARTIN, Production de la toxine diphtér. Ibid., XII, 26 (1898).

von 5 g NaCl und 20 g Pepton, neutralisieren, noch 7 ccm Normalnatronlauge zusetzen, bei 120° sterilisieren.

Ein Gemisch beider Extrakte zu gleichen Teilen, nochmals auf 70° erwärmt, filtriert und durch Chamberlandkerzen sterilisiert, giebt einen vortrefflichen, nicht säuernden Nährboden, auf dem bald sehr wirksame Toxine sich bilden, nach 30 Stunden letale Dosis 0,1, nach 5—7 Tagen 0,002 ccm.

Madsen[1]) lässt 2—3 Tage altes, fettarmes Kalbfleisch, fein gehackt, 15 Stunden mit dem doppelten Gewicht Wasser stehen, kocht dann 15 Minuten und seiht durch. Dann setzt er 1% Wittepepton, 1% NaCl zu, macht schwach alkalisch, kocht 3/4 Stunde, filtriert und verteilt die so gewonnene Nährbouillon zu je 1 Liter in Erlenmeyer-Kolben, die er dann 15 Minuten bei 120° im Autoklaven sterilisiert. Er bestimmt die Reaktion mit Lackmuspapier, bestimmt aber außerdem den »Titer« der Bouillon, d. h. die nötige Menge Normalnatronlauge, um eine deutliche Rotreaktion mit Phenolpthaleïn zu erzielen. Das Verhältnis beider Messungen ist derart, dass Nährlösungen mit einem Titer von über 20 ccm deutlich sauer auf Lackmus reagieren, bei 16 ccm amphoter und unter 10 ccm alkalisch. Das Alter des Fleisches ist nach seinen Erfahrungen nicht von wesentlichem Einfluss. Zusatz von Calciumkarbonat, den Spronck (l. c.) und van Turenhout (l. c.) empfohlen haben, hält zwar die Reaktion dauernd alkalisch, befördert aber trotzdem die Toxinbildung nicht wesentlich.

Spronck[2]) hat später den Fleischextrakt verlassen und seine Bazillen auf Hefedekokt kultiviert, wobei er sehr wirksame Giftlösungen erhielt. (Nach 48 Stunden letale Dosis 0,05, nach 5—6 Tagen 0,005 ccm).

Er kocht 1 Teil Handelshefe mit 20 Teilen Wasser 20 Minuten unter Umrühren. Nach dem Absetzenlassen dekantiert er die Flüssigkeit, setzt Kochsalz und Wittepepton (direkt aus Rostock bezogen) hinzu, neutralisiert und giebt 7 ccm per Liter Normalnatronlauge zu. Erhitzen, filtrieren, bei 120° sterilisieren.

Es ergiebt sich aus diesen Versuchen, dass die Produktion der Toxine von der Alkaleszenz des Mediums abhängt, und wie schon Roux & Yersin fanden, mit steigender Alkaleszenz zunimmt. Doch fand Madsen (l. c.), dass nicht immer der Toxingehalt der Alkaleszenz proportional ist.

Ein zweites Mittel, um die Toxinmenge zu vermehren, ist die Zufuhr von Luft. Schon Roux & Yersin fanden, dass Luftdurchleitung die Giftproduktion fördert, allerdings ist nach Martin (l. c.) und Park[3]) diese Förderung nicht sehr wesentlich, wenn man sonst gute Nährböden anwendet, nach Madsen sogar in diesem Falle direkt schädlich, weil bei reichlicher Toxinproduktion die Luft mehr Gift zerstört, als sie die Produktion fördert. Auch Spronck neigt zu der Ansicht, dass zwar

---

[1]) Madsen, Zur Biologie des Diphtheriebacillus. Z. f. Hyg., 26, 157 (1897).
[2]) Spronck, Préparation de la toxine diphtérique. Ann. Past., XII, 701 (1898).
[3]) Park, The preparation of Diphteria-Antitoxin. Med. Record, 47, 484 (1895).

das Wachstum der Bazillen bei Luftzutritt reichlicher wird und damit die absolute Toxinproduktion; dass aber die relative Toxinproduktion einer gegebenen Bazillenmenge durch Luftzutritt eher geschwächt, als gehoben wird. VAN TURENHOUT (l. c.) glaubt, dass Luftzufuhr die Oxydation der stickstoffhaltigen Stoffe und dadurch das Aufhören der sauren Reaktion beschleunige, aber auch Gift zerstöre. ARONSON[1]) hat mit großem Erfolge die Luftdurchleitung dadurch ersetzt, dass er die Bakterien in Oberflächenkulturen, die der Luft eine große Oberfläche darbieten, gezüchtet hat. SCHIERBECK[2]) empfiehlt Behandlung mit Kohlensäure.

Zuviel Luft und reiner Sauerstoff, besonders bei Bruttemperatur schädigen das Gift ganz erheblich (ROUX & YERSIN, MARTIN, MADSEN).

Wenn man auf diese Weise die Kulturen in möglichster Rücksichtnahme auf energische Toxinwirkung anlegt, so erhält man meist recht bald sehr wirksame Toxine. Schon nach 30—48 Stunden sind sie deutlich vorhanden. Vom 7. bis ca. 20. Tage erreicht die Giftigkeit ihr Maximum, dann beginnt sehr langsam eine Abnahme, die auf eine gleichzeitige Verminderung der Produktion der alternden Kultur und auf den Beginn der Toxoïdbildung zu beziehen ist. Umzüchtung der Kulturen stellt die toxigene Kraft wieder her (ROUX & YERSIN). Im allgemeinen wird man also zur Prüfung der primären Gifte Kulturen, die nicht älter als 3 Wochen sind, anwenden (MADSEN l. c.). Zur Immunisierung kann man allerdings oft gerade ältere Gifte ohne Nachteil benutzen, da auch die in ihnen enthaltenen Toxoïde immunisierend wirken.

Die Heranzüchtung einer möglichst intensiven Giftbouillon fällt durchaus nicht immer mit der einer besonders virulenten lebenden Kultur zusammen, es können mitunter wenig virulente Bazillen recht kräftig Toxine bilden (MARTIN l. c.).

Andererseits giebt es auch Diphtheriebazillenstämme, die weder Virulenz noch toxigene Kraft besitzen. LUBOWSKI[3]) hat einen derartigen Fall beschrieben. Ein vom Menschen stammender Bacillus bildete gar keine wirksamen Toxine. Das Serum des Kindes war hoch antitoxisch. Daraus ergiebt sich, dass der Bacillus sehr toxigen gewesen war, aber seine Kraft völlig eingebüßt hatte.

Die Giftproduktion weist überhaupt außerordentliche Schwankungen auf, und ist selbst bei gleicher Kultur im gleichen Nährboden nicht im voraus zu bestimmen. MADSEN hat vergeblich versucht, diese Schwan-

---

[1]) ARONSON, Immunisierungs- und Heilversuche bei der Diphtherie. Wien. med. Woch., 1894, 1956.

[2]) SCHIERBECK, Ueb. d. Einfluss der CO_2 auf das Wachstum der Diphth.-B. Arch. f. Hyg., 27, 339 (1896).

[3]) LUBOWSKI, Ueb. einen atoxischen und avirulenten Diphtheriestamm. Ztschr f. Hyg., 35, 87 (1900).

kungen aufzuklären; die Beschaffenheit der Kolben, die Sterilisation des Nährbodens sind ohne Einfluss.

Man ist in der Giftproduktion der Diphtheriebazillen so vorgeschritten, dass wir jetzt zur Immunisierung nur Gifte verwenden, von denen 0,02 cm^3 ein Meerschweinchen von 250 g akut töten.

Das Wesentliche zur Giftproduktion ist:

1. geeignete Kultur, welche Oberflächenwachstum zeigt, d. h. auf der Bouillon in Form einer Haut wächst;
2. Alkaleszenz der Bouillon;
3. das geeignete Pepton, am besten Chapoteaut 2 %;
4. genügende Luftzufuhr, also die Kolben nur zu etwa ein Drittel füllen;
5. nicht zu kurz und nicht zu lange bei 37° wachsen lassen; — es hängt dies von der Kultur ab und muss bei jedem einzelnen Stamme ausprobiert werden, wann das Maximum der Giftproduktion erreicht ist. Gewöhnlich nach ca. 10 Tagen bis 3 Wochen.

Schließlich hat man auch nach Mitteln gesucht, um eine Giftlösung zu erhalten, die zwar möglichst schnell immunisiert, aber trotzdem wenig giftig ist, und dadurch das Leben der Versuchstiere auch bei größeren Dosen wenig gefährdet. Brieger, Kitasato & Wassermann[1]) fanden, dass Diphtheriekulturen, auf Thymusbouillon gezüchtet, zwar ihre toxigene, aber wenig ihre immunisierende Kraft einbüßen. Hier bilden sich also vermutlich immunisierende Toxoïde.

In neuester Zeit ist es dann Madsen gelungen, mit den Toxonen der Diphtherie zu immunisieren, worauf wir bei diesen zurückkommen werden.

Hat man so giftreiche Flüssigkeiten, so gilt es jetzt, sie zu sterilisieren. Die Methoden sind auch hier die allgemein üblichen: Erwärmen, Zusatz von Antisepticis und Filtration durch Bakterienfilter.

Roux & Yersin fanden, dass die Giftlösungen bei 58° in wenigen Minuten entgiftet wurden, dass aber trockenes Gift länger als 1 Stunde auf 98° erhitzt werden kann.

Fränkel[2]) versuchte, die Kulturen durch einstündiges Erhitzen auf 65 bis 70° zu sterilisieren, Brieger & Fränkel[3]) erhitzten kleine Mengen 3 bis 5 Stunden auf 50°, wodurch sie sicher sterilisiert wurden, über 60° ging das Gift bald zu Grunde.

Behring & Wernicke[4]) erzeugten in den Kulturen einen Niederschlag von phosphorsaurem Kalk (Zusatz von Chlorcalcium), den sie dann nach dem

---

[1]) Brieger, Kitasato & Wassermann, Ueb. Immunität u. Giftfestigung. Z. f. Hyg., XII, 137 (1892).

[2]) Fränkel, Immunisierungsversuche bei Diphth. Berl. klin. Woch., 1890, 1133.

[3]) Brieger & Fränkel, Ueber Bakteriengifte. Ebd., 1890, 241.

[4]) Behring & Wernicke, Ueb. Immunisier. u. Heilung von Versuchstieren b. d. Diphth. Zeitschr. f. Hyg., XII, 10 (1892).

Trocknen durch Erhitzen auf 77° sterilisierten, wobei das mitgerissene Toxin nicht wesentlich geschädigt wurde.

Von chemischen Mitteln, die gleichzeitig tötend auf die lebenden Bazillen und konservierend auf die Giftlösung wirken, die also auch nur zu letzterem Zweck nach der Filtration zugesetzt werden, sind verwendet worden:

Jodtrichlorid, ICl_3, von BEHRING & WERNICKE,
Trikresol in 0,3proz. Lösung von ARONSON (l. c.),
Phenol ebenfalls 0,3proz. (SPRONCK l. c.).

Toluol benutzt EHRLICH, der seine Gifte unter Toluol bei 15° im Dunklen aufbewahrt. Nach ABBA [1]) hält sich Diphtherietoxin unter Toluol 2 Jahre lang im Dunklen und in der Kälte.

Die beste und bequemste Darstellung und Konservierung des Diphtheriegiftes für praktische Immunisierungszwecke ist folgende von EHRLICH & WASSERMANN angegebene. Die in oben beschriebener Weise bereiteten Bouillonkulturen werden durch ein doppeltes Papierfilter filtriert, so dass die groben Bakterienhäute zurückgehalten werden. — Das abfließende Filtrat wird etwa zwei Finger breit mit Toluol überschichtet, das Ganze tüchtig öfters während zweier Tage durchgeschüttelt. Dann sind alle lebenden Keime abgetötet und die Flüssigkeit enthält nur mehr die Gifte. Zum Gebrauche wird mittelst einer Pipette stets das Gift unter der obenschwimmenden und konservierenden Toluolschicht hervorgeholt. Das Gift soll kühl und besonders vor Licht geschützt, in schwarzen oder mit Papier überzogenen Flaschen aufbewahrt werden. In dieser Art werden die Gifte bei der preußischen Kontrollstation bereitet und aufbewahrt.

Für feinere biologische und chemische Untersuchungen genügt diese grobe Filtration nicht, sondern hier muss die Flüssigkeit durch richtige Bakterienfilter ganz von Bazillenkörpern befreit und sterilisiert werden.

Versuche zur Reindarstellung des Diphtherietoxins.

Versuche, das Diphtherietoxin in reinem oder wenigstens konzentriertem Zustande zu gewinnen, sind schon in der allerersten Zeit der Diphtheriebazillenforschung gemacht worden.

LÖFFLER [2]) fand, dass beim Eindampfen, oder beim Ausschütteln mit Aether keine wirksamen Gifte erhalten würden; dagegen bekam er durch Glycerinextraktion aus infiziertem Fleischbrei eine schwach toxisch wirksame Substanz, die durch Alkohol gefällt werden konnte. Er nannte sie bereits ein »Enzym«.

---

[1]) ABBA, Ueb. d. Dauer des toxisch. Vermögens beim D.-T. u. Antit. C. f. Bakt. 23, 934 (1898).

[2]) LÖFFLER, Der gegenw. Stand d. Frage u. d. Entsteh. d. Diphtherie. Deutsche med. Woch., 1890, Nr. 5/6.

Später wurden von Roux & Yersin, Madsen u. a. durch Fällungen mit Alkohol, durch Sättigen mit Ammonsulfat und durch Ausfällen mittelst Calciumphosphat wirksame Trockenpräparate des Toxins gewonnen, die allerdings auf Reinheit keinen Anspruch machten. Als das Wesentlichste dieser Versuche ist zu bezeichnen, dass das Diphtheriegift von einem in seiner Lösung erzeugten voluminösen Niederschlag z. B. Calciumphosphat mechanisch mit niedergerissen wird.

Systematisch und gründlich wurden diese Arbeiten erst von Brieger aufgenommen. Zuerst suchte er in Gemeinschaft mit C. Fränkel[1]) nach Ptomaïnen in den Diphtheriekulturen, musste aber bald sich überzeugen, dass flüchtige Basen hier absolut nicht vorhanden sind. Brieger hat infolgedessen seine Ansichten über die Bedeutung der Ptomaïne wesentlich modifiziert. Er erhielt nun aus den Bakterienkulturen, nicht nur der Diphtherie, sondern auch zahlreicher anderer Bakterien, eiweißartige, giftige Stoffe, die er als Toxalbumine bezeichnete.

Brieger & Fränkel gelangten zu ihrem Toxalbumin der Diphtherie folgendermaßen:

Man kann zunächst aus der Bouillon durch Sättigen mit Magnesiumsulfat bei 30° die Globuline abscheiden. Es giebt dann eine geringe Fällung, die völlig ungiftig ist.

Aus der so vorbehandelten, oder ebensogut der frischen Bouillon, kann man dann die giftigen Eiweißstoffe durch Ammonsulfat oder Natriumsulfat fällen, oder auch mit einem großen Ueberschuss von Alkohol. Da die Ammonsulfatfällung nach dem Wiederauflösen erst nicht ohne Verlust dialysiert werden muss, so fällt man am besten mit Alkohol.

Man dampft die Bouillon bei 30° auf ein Drittel ihres Volumens ein und versetzt sie mit dem zehnfachen Volumen absoluten Alkohols, am besten unter Zusatz von einigen Tropfen Essigsäure. Nach 12stündigem Stehen im Eisschrank wird filtriert, mit Wasser aufgenommen, wieder mit Alkohol gefällt und dies 6—8mal wiederholt, bis die Lösung des Präzipitates in Wasser ganz klar ist. Dann wird das Präparat dialysiert und im Vacuum bei 40° getrocknet.

Man erhält so ein schneeweißes Pulver, das in wässeriger Lösung beim Kochen nicht koaguliert. Na_2SO_4, NaCl, $MgSO_4$, HNO_3, Bleiacetat geben keinen Niederschlag, wohl aber Kohlendioxyd in den gesättigten Lösungen, ferner alle übrigen Eiweißreagentien. Der Stoff ist also den Albumosen verwandt, er giebt eine Benzoyl-, aber keine Phenylhydrazinverbindung. Trockenes Erhitzen auf 70° verträgt er ohne Schaden. Er ist giftig: 2,5 mg pro Kilo sind sicher tödlich. Es ist also nicht sehr giftig, ein Teil des Toxins scheint zerstört zu sein.

Wassermann & Proskauer[2]) haben dies Verfahren modifiziert:

---

[1]) Brieger & Fränkel, Ueber Bakteriengifte. Berl. klin. Woch., 1890, 241.

[2]) Wassermann & Proskauer, Ueb. die von d. Diphtheriebacillen erzeugten Toxalbumine. Deutsche med. Woch., 1891, 585.

Sie dampfen die Bouillon, die durch Zusatz von 10—12 cm³ Normalnatronlauge alkalisiert und durch KITASATO-Kerzen sterilisiert war, im Vacuum bei 27—30° auf ein Zehntel ihres Volumens ein. Dann wird bei niederer Temperatur dreimal gegen fließendes Wasser dialysiert. Dadurch gehen die Salze und Peptone heraus und die Globuline werden teilweise gefällt. Letztere sind ungiftig. Der Dialysatorinhalt wird, was wichtig, bis zur Klarheit filtriert. Dann gießt man ihn in das zehnfache Volumen 60—70 proz. Alkohols, der mit einigen Tropfen Essigsäure angesäuert war, und lässt 24 Stunden stehen. Der hierbei entstandene Niederschlag wird abfiltriert, das Filtrat fällt tropfenweise in absoluten Alkohol. Der hierbei entstehende neue Niederschlag wird ebenfalls abfiltriert, beide in wenig Wasser gelöst und mit der doppelten Menge gesättigter Ammonsulfatlösung gefällt. Wieder gelöst, bis zum Verschwinden der Schwefelsäurereaktion dialysiert, nochmals in Alc. absol. eingetragen und das Verfahren wiederholt, bis die wässerige Lösung völlig klar ist. Dann werden die Präparate bei 37° im Vacuum getrocknet. Sie ergaben alle Albumosenreaktionen. Nur der schon durch 60 % Alkohol ausgefällte Niederschlag ist giftig, der andere gar nicht, so dass also auf diesem Wege eine weitere Trennung des Toxins von der Menge der mitgefällten Eiweißkörper möglich ist. Sie erhielten auf demselben Wege diese Produkte aus Glycerin und Kochsalzextrakten von Organen diphtheriekranker Menschen. Doch sind alle diese Präparate sehr wenig giftig. Um ein Kaninchen in 3—4 Tagen zu töten, brauchte man 10 mg. Durch 3 mg wurde der Tod erst in 8 Wochen herbeigeführt.

Giftigere Produkte erhielten WASSERMANN & PROSKAUER aus den Organen vergifteter Kaninchen durch Glycerinextraktion. Es ergab sich ein weißes Pulver, das in einer Dosis von 0,2 mg intravenös ein Kaninchen in 6—14 Tagen tötet.

Die Befreiung des eigentlichen Toxins von dem anhaftenden Eiweißballast und damit die Erkenntnis, dass das wirksame Prinzip kein Proteïn ist, verdanken wir ebenfalls BRIEGER[1]), der mit BOER das Toxin in ziemlicher Reinheit dargestellt hat.

BRIEGER & BOER benutzten zu diesem Zwecke die Ausfällung des Toxins als Zinkdoppelsalz. Die Fällung ist so gut wie quantitativ, wenigstens beim Diphtheriegift; desto schwieriger aber ist es, das Toxin vom Zink zu trennen, besonders da Schwefelwasserstoff, der sonst sehr bequem anzuwenden wäre, die Toxine schnell zerstört. Nach langen, mühevollen Versuchen gelang ihnen die Trennung folgendermaßen:

Die Giftbouillon (sie benutzten auch Blutserum mit gutem Erfolge als Kulturflüssigkeit) wird mit dem doppelten Volumen 1 proz. Zinkchloridlösung gefällt. Der entstehende Niederschlag reichlich mit Wasser gewaschen. Dann wird er kräftig mit einer 3—6 proz. Ammoniumkarbonatlösung geschüttelt. Dann setzt man soviel Ammoniumphosphatlösung hinzu, bis der ganze Niederschlag in Lösung gegangen ist und nur eine feine Trübung von abgeschiedenem

---

[1]) BRIEGER & BOER, Ueb. d. Toxine d. Diphth. u. d. Tetanus. Deutsche med. Woch., 1896, 783. Zeitschr. f. Hyg., 21, 259 (1896).

Zinkphosphat besteht. Diese wird durch gehärtete Filter abfiltriert, nachdem sie sich ordentlich abgesetzt hat, und das Filter mit viel Wasser ausgewaschen. Dann wird das Filtrat mit festem Ammonsulfat gesättigt, nochmals in Wasser gelöst und mit Natriumsulfat in Substanz gefällt. Dabei bleiben Peptone in Lösung.

Das so dargestellte Toxin zeigt keine Eiweißreaktionen mehr. Die Zinkverbindung giebt ebenfalls keine Eiweißreaktionen, ist optisch inaktiv, färbt sich beim Kochen mit Eisenchloridlösung rot.

Alkohol, Aether, Aceton, Säuren und schwache Oxydationsmittel zerstören das Gift schnell, schwache Alkalien und Reduktionsmittel sind indifferent.

Auch aus dialysiertem Harn, also einem eiweißfreien Nährboden (Guinochet l. c.), und aus anderen derartigen Nährlösungen (Uschinsky[1]) kann man, allerdings nur sehr geringe Mengen Diphtherotoxin gewinnen. Uschinsky benutzte eine Nährlösung von folgender Zusammensetzung: Glycerin 40—50, NaCl 5—7, Ammonium lacticum 10, $CaCl_2$ 0,1, $MgSO_4$ 0,2, K_2HPO_4 1 auf 1000 Wasser. Das Gift zeigte nicht die üblichen Eiweißreaktionen.

Eigenschaften des Diphtherietoxins.

Das Gift ist in chemisch reinem Zustande nicht bekannt. Was man also von seinen Eigenschaften angeben kann, bezieht sich auf diejenigen Präparate, die es neben anderen Beimischungen enthalten. Seine wesentlichsten Eigenschaften sind bereits von Roux & Yersin mitgeteilt worden.

Es ist wahrscheinlich kein Eiweißkörper, da die reinsten Präparate (siehe oben) keine dementsprechenden Reaktionen mehr zeigen. Ein Versuch von Arrhenius & Madsen[2]) das Molekulargewicht mit Hilfe der Diffusionsschnelligkeit in Gelatine zu ermitteln, hat vorläufig nur zu dem Resultat geführt, dass die Toxine jedenfalls ein viel kleineres Molekulargewicht haben als die Antitoxine.

Gegen äußere Einflüsse ist es sehr empfindlich. Das eigentliche Toxin wird durch Kochen sehr schnell, bei ca. 60° ziemlich schnell zerstört, doch behält die erhitzte Lösung eine gewisse Giftigkeit bei, die bei den Versuchstieren zur Abmagerung und Spätlähmungen, häufig noch zum Tode führt. Aehnlich scheint das Gift im Organismus verändert zu werden. Roux & Yersin haben aus den Organen und dem Harn von Kindern, die an schwerer Diphtherie litten, giftige Stoffe von ganz analogen Eigenschaften dargestellt. Sie zeigen ähnliche toxische Wirkungen wie die Toxone (siehe unten).

---

1) Uschinsky, Ueber Diphtheriekulturen auf eiweißfreier Nährlösung. Centralbl. f. Bakt., 21, 146 (1897). — Ders., Les Poisons de la Diphtherie et du Choléra. Arch. de méd. expér., 1893, 293.

2) Arrhenius & Madsen, On the molecular weight of Di.-T. Festschrift des Statens Serum Institut, Kopenhagen 1902.

Sauerstoffzufuhr und Belichtung schädigen im Verein das Diphtherietoxin sehr schnell, viel weniger beide Faktoren einzeln.

Nach PIAZZA[1]) wirkt diffuses Tageslicht sehr langsam, nach 23 Tagen ist eine deutliche Abnahme zu konstatieren, die erst nach 96 Tagen beträchtlich wird. Direktes Sonnenlicht wirkt bei Sauerstoffzufuhr sehr energisch. Nur die beiden Enden des Spectrums, die Wärme- und aktinischen Strahlen (rot und violett) wirken dabei, die Mitte (gelb) ist gänzlich unwirksam.

Auch durch Säuren wird das Toxin unwirksam. Nach ROUX & YERSIN bewirkt eine Ansäuerung der Giftlösung mit Milchsäure oder Weinsäure fast völlige Entgiftung; in geringerem Maße schädigen Phenol, Borsäure und Borax. Neutralisierung stellt die Wirksamkeit zum Teil wieder her.

Nach BRIEGER & BOER ist es außerordentlich empfindlich gegen oxydierende Substanzen, wenig dagegen gegen Reduktionsmittel in schwach alkalischer Lösung. So lässt es sich erklären, dass es in den schwach alkalischen, reduzierenden Körpersäften sein bestes Medium findet. Nach DÉLÉARDE[2]) wird es durch Antipyrin ungiftig gemacht. Auch durch Antiseptica in größerer Konzentration wird es zerstört, auch durch Salicylaldehyd (SALKOWSKI[3]). Hefe schwächt das Toxin ab (NOBÉCOURT[4]).

Höchst wahrscheinlich ist überhaupt die Art der umgebenden Medien von Einfluss auf den Bestand und die Wirkung des Toxins, doch geht es viel zu weit, und steht mit der zweifellos nachweisbaren Veränderung des Giftes selbst in Widerspruch, wenn DANYSCZ[5]) jede Veränderung der Wirkung auf Veränderung der umgebenden Medien zurückführen will. Auch die anderen äußeren Eigenschaften sind ganz analog den für alle Enzyme giltigen.

Die Diffusion durch Pergament ist deutlich nachweisbar. Von 5 cm³ giftiger Bouillon diffundierte gegen 12 cm³ Wasser durchschnittlich in 24 Stunden eine für Meerschweinchen letale Dosis (ROUX & YERSIN). Dagegen diffundiert es nicht durch Membranen, die aus tierischen Organen gebildet werden, z. B. Oesophagus, Dickdarm, Gallenblase, außer Dünndarm (CHASSIN & MOUSSU[6]). Auch durch Kollodium geht es nicht (RODET & GUÉCHOFF[7]).

---

[1]) PIAZZA, Influenza della luce solare sulla tossina difter. Ann. d'Igiene sperim. Nuova ser. V, 521 (1895), ref. C. f. Bakt., 19, 914 (1896).

[2]) DÉLÉARDE, Rech. expér. sur les propriétés etc. de l'antipyrine. Arch. de méd. expér., 1897, 786.

[3]) SALKOWSKI, Ueb. d. Wirkg. d. Antiseptica anf Toxine. Berl. klin. Woch., 1898, 545.

[4]) NOBÉCOURT, Action des levures etc. Soc. Biol., 52, 753 (1900).

[5]) DANYSCZ, Constitution des toxines. Ann. Past., XIII, 581 (1899).

[6]) CHASSIN & MOUSSU, Influence de la dialyse etc. Soc. Biol., 52, 694 (1900).

[7]) RODET & GUÉCHOFF, Soc. Biol., 52, 965 (1900).

In reinem Alkohol ist es völlig unlöslich, doch wird es langsam durch ihn zerstört (WASSERMANN & PROSKAUER l. c.), ebenso durch Aether und Aceton (BRIEGER & BOER l. c.). Durch die Verdauungsfermente im Magen und Darm wird es zerstört (PALTSCHIKOWSKI[1]).

Wie auch die Enzyme wird es aus seinen Lösungen durch fallende Niederschläge mitgerissen. Bei fraktionierter Fällung mit Chlorcalciumlösung reißt der entstehende Calciumphosphatniederschlag einen großen Teil des Toxins mit; am giftigsten ist der zweite Niederschlag; doch ist die Fällung nie ganz vollständig, noch weniger mit Aluminiumphosphat. Besonders die eigenartigen, späte Lähmungen erzeugenden Gifte bleiben zum großen Teil in Lösung. Dieser Calciumphosphatniederschlag kann ungestraft lange auf 70° erhitzt werden, und erträgt 100° 20 Minuten lang ohne merkliche Schädigung. Er giebt subkutan eingeführt sein Gift langsam ab, erzeugt außerdem Entzündungsvorgänge (Fibrinausscheidung, falsche Membranen), scheint also den lebenden Bazillen ganz ähnlich zu wirken. Auch durch Nukleohiston und Nukleïnsäure wird es ausgefällt (FREUND & GROSZ[2]). Durch Dialyse kann man aus dem wässerigen Auszug dieses Niederschlages, oder aus der Alkoholfällung fast aschefreie Toxine herstellen.

Besonderes Interesse hat eine Zeitlang die Reaktion der Diphtheriegiftlösungen auf elektrische Ströme erweckt. Zuerst hatten SMIRNOW[3]) und KRÜGER[4]) konstante Ströme geringer Intensität auf die Toxine einwirken lassen. Sie fanden dabei, dass bei einer vorsichtigen Anwendung des Stromes zunächst an der Anode eine leichte Acidität eintritt. Wenn diese so beschaffen ist, dass 1 cm³ ca. 1,2 cm³ Normalnatronlauge neutralisiert, soll der Strom unterbrochen werden. Dann fanden sie, dass der Giftwert ganz beträchtlich herabgesetzt ist, der Immunisierungswert indessen nicht. Ganz ähnliche Resultate fanden D'ARSONVAL & CHARRIN[5]) bei Anwendung von hochgespannten Wechselströmen von großer Wechselzahl. Es knüpften sich daran theoretisch unhaltbare, sehr weitausschauende Spekulationen über die Bildung von »künstlichem Heilserum« ohne Tier u. s. w.; wozu noch bei D'ARSONVAL & CHARRIN die phantastische Idee kam, die Infektion im Körper selbst durch solche hochgespannte Ströme zu bekämpfen, die ja bekanntlich ohne jede Einwirkung auf den Menschen sind.

---

[1]) PALTSCHIKOWSKI, Ueb. d. Veränderungen der diphtheritischen Toxine in den Nahrungswegen. Ref. Centralbl. f. Bakt., 25, 843 (1899). S. dar. auch d. Allg. Teil.

[2]) FREUND & GROSZ, Ueb. d. Bez. zw. Gerinnung u. d. Wirkg. d. Antitoxine. Centralbl. f. inn. Med., 1895, 613, 637.

[3]) SMIRNOW, Ueb. d. Behandlung der Diphtherie. Berl. klin. Woch., 1894, 683; 1895, 645, 675.

[4]) KRÜGER, Ueb. die chem. Wirkg. d. Elektriz. auf toxische und immunis. Bakteriensubstanzen. Deutsche med. Woch., 1895, 331.

[5]) D'ARSONVAL & CHARRIN, Action des courants á haute frequence sur les toxines bactériennes. Compt. rend. de l'acad., 122, 280 (1896).

Alle diese etwas mystischen Vorstellungen über den Einfluss der Elektrizität sind indessen durch Marmier[1]) geklärt worden. Marmier wies nach, dass bei der Elektrolyse mit konstanten Strömen oxydicrende Substanzen entstehen, besonders Hypochlorite und freies Chlor aus dem stets vorhandenen Kochsalz, die dann, also sekundär, auf die toxophore Gruppe des Giftes einwirken.

Für die Wechselströme konnte Marmier zeigen, dass trotz Eiskühlung eine so intensive Erwärmung eintritt, dass diese allein hinreicht, um die Abschwächung des Giftes zu erklären. Als er diese durch sinnreiche Vorkehrungen ausschaltete, blieb jede erkennbare Wirkung auf das Toxin sowohl bei Diphtherie wie Tetanus aus.

Es handelt sich hier also um sekundäre Veränderungen unter dem Einfluss des elektrischen Stromes, die augenscheinlich zu einer schnelleren Toxoïdbildung unter Zerstörung der toxophoren Gruppe führen.

Physiologische Wirksamkeit des Diphtherietoxins.

Das Diphtherietoxin ist für manche Tiere von außerordentlicher Giftigkeit. Roux & Yersin schätzen die einfach tödliche Dosis für ein Meerschweinchen auf ca. 0,05 mg, für Kaninchen auf 0,1 mg der organischen, aschefreien Substanz, die also nur einen, vielleicht sehr geringen Bruchteil reinen Toxins enthält. Auf poikilotherme Tiere soll es nach Calabrese & Zagari[2]) überhaupt nicht wirken, doch beobachteten Courmont, Doyon & Paviot[3]) bei erwärmten Fröschen Paralyse und Abmagerung. Die Wirksamkeit des Toxins fällt in allen wesentlichen Punkten mit der Allgemeinwirkung der lebenden Bazillen zusammen. Es kann also hier nicht unsere Aufgabe sein, diese Erscheinungen genau zu schildern. Wir werden uns vielmehr mit einem ganz flüchtigen Ueberblick begnügen müssen, da die Erkrankungserscheinungen der Diphtherie an zahlreichen Stellen bis ins Detail geschildert sind.

Von allgemeinen Wirkungen des Diphthericgiftes hat man folgendes berichtet:

Eine der hervorstechendsten Eigenschaften ist die erhebliche Erweiterung der Gefäße, die nach einer gewissen Inkubationszeit eintritt (siehe unten).

Die Temperatur steigt zunächst und geht dann unter die Norm (bis auf 25°), nach Arloing & Laulanié[4]) infolge des Sinkens der Lebens-

---

[1]) Marmier, Les toxines et l'électricité. Ann. Past., 469 (1896).

[2]) Calabrese & Zagari, Ricerche sulla tossina ed antitossina difter. (Giorn. internaz. di Scienze mediche, 1895, Nr. 4, 19—21). Baumgartens Jahrb., 1895, 215.

[3]) Courmont, Doyon & Paviot, Action de la toxine diphtérique sur le système nervenx de la grenouille etc. Soc. Biol., 47, 210 (1895).

[4]) Arloing & Laulanié, Ét. expér. sur les troubles imprimés . . . par les toxines diphth. Soc. Biol., 47, 433 (1895).

energie und der oxydativen Vorgänge. Bei sehr großen Dosen kann die Hypothermie ausbleiben (COURMONT & DOYON[1]).

Den gesamten Stoffwechsel von Tieren nach Vergiftung mit Diphtherietoxin in Bezug auf Cl und N hat u. a. PACE[2]) beobachtet. Zum Schluss tritt ausgedehnter Eiweißzerfall in die Erscheinung.

Besonderes Interesse bot die Frage, ob das Diphtherietoxin eine direkte Schädigung der Herzaktion bewirkt oder nicht. Schließlich tritt freilich Herzkollaps ein und das Herz bleibt in Diastole stehn; aber es ist noch nicht entschieden, ob dies nicht die sekundäre Folge einer primären Lähmung der Vasomotoren ist.

ENRIQUEZ & HALLION[3]) fanden, dass der Blutdruck erst nach längerer Zeit zu sinken beginnt; BECK & SLAPA[4]) bestätigen dies; sie fanden ein beträchtliches Sinken des Blutdruckes sogar erst kurz vor dem Tode.

Umfangreiche experimentelle Untersuchungen über das Verhalten der Herzaktion bei der Vergiftung mit Diphtherietoxin stellten ROMBERG, PÄSSLER, BRUHNS & MÜLLER[5]) an, als deren Resultat sie angeben, dass eine primäre Herzwirkung nicht vorliegt, sondern die Vasomotorenlähmung die einzige direkte Wirkung sei. Erst sekundär wird das Herz infolge der mangelhaften Durchblutung geschädigt. An diesen Resultaten hat nun STEJSKAL[6]) scharfe Kritik geübt, und nimmt auf Grund seiner angeblich genaueren Versuche eine direkte Schädigung des Herzens durch Diphtheriegift an.

Nach einer ganz kurzen Anstachelung der Herzkraft tritt eine kurze Zeit dauernde Schwächung ein; es folgt wieder eine Zeit der Steigerung, die schließlich von der definitiven Verschlechterung der Herzarbeit abgelöst wird, die früher zur Lähmung des Herzens als der Vasomotoren führen kann.

Eine Unterstützung finden diese Ergebnisse in den Arbeiten von FENYVESSY[7]) und SHARP[8]), die am isolierten Froschherz ebenfalls direkte Wirkungen des Diphtheriegiftes konstatieren konnten. Nach dem Tode

---

[1]) COURMONT & DOYON, Marche de la températ. dans l'intoxication diphth. Arch. de physiol., 27, 252 (1895).

[2]) PACE, Influenza della tossine difter. Il Policlinico, 7. Baumg. Jb., 1900, 180.

[3]) ENRIQUEZ & HALLION, Sur les effets physiol. de la toxine diphth. Arch. de phys., 27, 515 (1895).

[4]) BECK & SLAPA, Ueb. den Einfl. des D.-G. auf den Kreislauf. Wien. klin. Woch., 1895, 333.

[5]) ROMBERG, PÄSSLER, BRUHNS & MÜLLER, Unters. üb. d. allg. Patholog. der Kreislaufstörung bei akuten Infektionskrankh. Arch. f. klin. Med., 64, 652 (1899).

[6]) STEJSKAL, Kritisch-experim. Unt. üb. d. Herztod infolge von Diphth.-Toxin. Z. f. klin. Med., 44, 367 (1902).

[7]) FENYVESSY, Ueb. d. Wirkg. d. D.-T. u. Antit. auf das Froschherz. Jahrb. f. Kinderh., N. F., 43, 216 (1896).

[8]) SHARP, The action of the products of the organism of dipht. on the heart of the frog. Journ. of anat. and physiol., 31, 199 (1897).

fanden Mollard & Regaux[1]) myokarditische Veränderungen am Herzen, die vielleicht auch im Sinne einer direkten Schädigung zu deuten sind.

Eppinger[2]) beobachtete ebenfalls ziemlich schwere Veränderungen am Herzmuskel, die er als Myolyse bezeichnet. Er nimmt geradezu an, dass das Toxin sich direkt gegen den Muskel wendet, sich in ihm verankert, und ihn so schädigt.

Von einzelnen Organen werden betroffen:

Darm: Courmont, Doyon & Paviot[3]) fanden im Dünndarm von Hunden Exsudationen und Enteritis membranacea.

Leber: Courmont, Doyon & Paviot[4]) beobachteten an Hunden bei intravenöser Injektion eine Hepatitis parenchymatosa mit Hyperämie und interstitiellen Blutungen. Baldassari[5]) fand trübe Schwellung und ähnliche Veränderungen, wie sie bei Phosphor- und Arsenvergiftung vorkommen. An den Nieren fand Baldassari[5]) Epithelveränderungen.

Lokale Läsionen des Auges, vergleichbar den diphtheritischen, fanden Morax & Elmassian[6]). Auch Gatti[7]) hat durch direkte Berührung der Netzhaut mit Diphtherietoxin Schädigungen beobachtet, die zu einer Quellung des Gewebes mit Erhaltung der Kerne und der Ganglienzellen führen.

Vor allem aber setzt es ebenfalls schwere Störungen am Zentralnervensystem, deren genauere Untersuchungen uns hier nicht näher beschäftigen können.

Untersuchungen dieser Art liegen vor von Enriquez & Hallion[8]), Crocq fils[9]), Thomas[10]), Murawjew[11]) u. a.

Indessen ist es gerade bei den Läsionen des Nervensystems sehr fraglich, ob man sie allein dem Diphtherietoxin als solchem zuschreiben

---

1) Mollard & Regaux, Lésions du myocarde dans l'intox. aigüe par la t. d. Ann. Past., XI, 97 (1897).

2) Eppinger, Die toxische Myolyse des Herzens bei Di. Deutsche med. Woch., 1903, Nr. 15/16.

3) Courmont, Doyon & Paviot, Lésions intestinales dans l'intoxic. diphth. Arch. de phys., 27, 484 (1895).

4) Courmont, Doyon & Paviot, Lésions hépatiques engendrés par la t. d. Arch. d. phys., 27, 687 (1895).

5) Baldassari, Ueb. d. Wirkg. d. D.-T. auf den Zellkern. C. f. allg. Pathol., VII, 625 (1896).

6) Morax & Elmassian, Action de la toxine d. sur les muqueuses. Ann. Past., XII, 210 (1898).

7) Gatti, L'azione di alcune tossine batteriche sopra gli elementi della retina. Autoreferat i. Bioch. Centr., I, Nr. 775 (1903).

8) Enriquez & Hallion, Myelite expér. par t. d. Soc. Biol., 46, 312 (1894).

9) Crocq, S. l. altérat. du syst. nerveux dans l. paralys. diphth. Arch. méd. expér., VII, 503 (1895).

10) Thomas, Boston med. and surg. journ., Nr. 4 ff., 1898.

11) Murawjew, Das D.-T. u. Antit. in ihrer Wechselwirkg. auf das Nervensystem d. Meerschw. Fortschr. d. Med., 1898, 93.

darf. Soweit diese Veränderungen mit den diphtherischen Spätlähmungen zu thun haben, fallen sie wahrscheinlich den Toxonen zur Last. Ob auch das reine Toxin die Spätlähmungen erzeugen kann, oder ob dies nur eine spezifische Funktion der Toxone ist, lässt sich vorderhand nicht sicher sagen, wahrscheinlich ist hingegen das letztere. Die Allgemeinvergiftung verläuft völlig analog der mit lebenden Bazillen, so dass man anzunehmen berechtigt ist, dass diese nur durch ihr produziertes Toxin so deletär wirken.

Meerschweinchen zeigen nach der Vergiftung mit Diphtherietoxin den typischen Sektionsbefund der bazillären Erkrankung.

Flexner[1]) hat mit größter Sorgfalt den Sektionsbefund nach Diphtherietoxinvergiftung angegeben: Oedeme, Drüsenschwellung, Kongestion und Hämorrhagieen der Nebennieren, sonst wenig Charakteristisches, auch mikroskopisch nicht. Auch Councilman, Mallory & Pearce[2]) haben ebenfalls ausgedehnte Studien über diese Befunde angestellt.

Roux & Yersin konnten mit Diphtheriegift eine typische Pseudomembranbildung bei der Einimpfung auf Trachea und Vagina bei Meerschweinchen erzeugen.

Das empfindlichste Tier ist das Meerschweinchen, doch zeigen sich bei ihm nach Ehrlich auch Rassenunterschiede in der Empfänglichkeit. Pferde, Ziegen und Schafe sind sehr empfindlich. Kaninchen weniger, noch weniger Mäuse, die fast refraktär sind.

Nach der Einführung auf subkutanem oder intravenösem Wege verschwindet es außerordentlich schnell aus der Blutbahn, indem es von den Rezeptoren der Gewebe an sich gerissen und gebunden wird. Man kann dies daran erkennen, dass Antitoxinmengen, die nach der Injektion von Gift eingeführt werden, mit Zunahme der Zeitdifferenz außerordentlich schnell jede Wirkung einbüßen.

Dönitz[3]) fand, dass eine einfach neutralisierende Antitoxinmenge schon 15 Minuten nach der Zufuhr einer siebenfach tödlichen Dosis das Tier nicht mehr retten kann, und dass nach $1^1/_2$ Stunden selbst sehr große Dosen dazu nicht mehr imstande waren.

Andererseits hat man aber auch direkt die Toxizität des Blutes nach Injektion von Diphtherietoxin untersucht. Bomstein[4]) injizierte Kaninchen die für ein Meerschweinchen zweifach tödliche Dosis pro cm³ Blut des Kaninchens. Nach einer Stunde war noch 0,5, nach

---

[1]) Flexner, The pathology of toxalbumin intoxication. Johns Hopkins Hosp. Record, VI, 259 (1897). S. A.

[2]) Councilman, Mallory & Pearce, Diphtheria. — A study of bacteriology etc., 1901, ausführlich cit. in Vaughan & Novy, The cellular toxins, 1902, p. 75 ff.

[3]) Dönitz, Ueb. d. Grenzen d. Wirksamkeit d. Diphtherieheilserums. Arch. internat. d. Pharmacodyn., V, 425 (1899).

[4]) Bomstein, Ueb. d. Schicksal der Diphth.-T. im Tierorganismus. C. f. Bakt., 23, 785 (1898).

3 Stunden 0,25, nach 12 Stunden 0,12 davon vorhanden. Die Abnahme wird also immer geringer und die letzten Spuren scheinen sehr langsam zu verschwinden.

Aehnliche Resultate erzielte CROLY[1]). Nach 5 Minuten fand er das Toxin noch unverändert, nach 2 Stunden höchstens die Hälfte.

In den Organen ist das Gift dann auch nicht nachzuweisen, ebensowenig wird es durch den Urin oder den Darmsaft ausgeschieden (BOMSTEIN), nur BRUNNER[2]) fand es im Muskelsaft wieder, und SALTER[3]) im Schweiß (?).

Vom Magen und dem gesamten Darm aus wirkt es gar nicht. Es wird von den Verdauungssäften gleich allen anderen Toxinen zerstört, besonders von Pankreasfistelsaft, weniger von Magensaft. Bei sehr großen Dosen tritt eine gewisse Wirkung ein (NENCKI, SIEBER & SCHOUMANOWSKI[4]), ebenso wenn die Schleimhaut künstlich lädiert wird (siehe auch im Allgem. Teil).

Eine eigentümliche Wirkung des Diphtherietoxins will CONSIGLIO[5]) beobachtet haben. Er fand, dass es die Gärungsprozesse in kleinen Dosen fördert, in größeren hemmt; dass es andererseits aber stets einen sehr ungünstigen Einfluss auf Keimungsprozesse der Samen ausübt.

Toxoïde und Toxone.

Von den Eigenschaften der Toxoïde, die sich in älteren Kulturen vorfinden (siehe im Allg. Teil), ist uns gar nichts bekannt. Von dem chemischen Vorgang, der zu der supponierten Unwirksammachung der toxophoren Gruppe führt, haben wir nicht die geringste Vorstellung. Ebensowenig kann man angeben, ob sie in freiem Zustande physiologisch völlig indifferent sind, oder noch eine geringe Giftigkeit besitzen, obwohl letzteres nach den zahlenmäßigen Ergebnissen, den scharfen Zahlen bei der Veränderung des Giftes nicht gerade wahrscheinlich ist.

Der einzige Hinweis darauf, dass sich in abgeschwächten Kulturen andere Stoffe vorfinden, ist die Bemerkung von BRIEGER & FRÄNKEL (l. c.), dass sie aus solchen Kulturen einen ungiftigen, in verdünntem Alkohol etwas löslichen Stoff fanden, der sich von dem Toxin auch chemisch, z. B. durch Bildung einer Phenylhydrazinverbindung, unterscheidet. Diesen Stoff

---

[1]) CROLY, Sur l. disparition de la tox. dipht. injectée dans le sang. Arch. internat. de pharmacodynamie, III.

[2]) BRUNNER, Unt. üb. die Wirk. von Bakterien- u. Pflanzengiften. Ref. C. f. Bakt., 24, 184 (1898).

[3]) SALTER, The elimination of bacterial toxins. Lancet, 1898, I, 152. Vergl. a. WALSH, ibid., 362.

[4]) NENCKI, SIEBER & SCHOUMANOWSKI, Die Entgiftung der Toxine. C. f. Bakt., 23, 840 (1898).

[5]) CONSIGLIO, Azione di alcune tossine etc. Arch. di Farm., VI, Nr. 3 (1898). Malys Jb., 1898, 634.

fanden auch WASSERMANN & PROSKAUER (l. c.) in abgeschwächten Kulturen sehr reichlich. Ob er mit den Toxoïden etwas zu thun hat, sei dahingestellt.

Dagegen wissen wir von den freien Toxonen, die ein zweites primäres Produkt darstellen, und die wir ja in der Differentialzone mit Sicherheit studieren können, dass sie ganz bestimmte Giftwirkungen entfalten. EHRLICH[1]) hat leichte Oedeme und spät auftretende Lähmungen beobachtet. MADSEN[2]) fand, dass sie Oedeme erzeugen, jedoch keine Nekrosen und Alopecieen. Die Lähmungen treten vom 13.—33. Tage ein und führen bei großen Dosen stets zum Tode. Er beobachtete auch Verschiedenheiten in der Wirkung verschiedener Kulturen. Besonders bei stark abgeschwächten Giften, wo also zwischen L_0 und $L_\dagger$ viel freie Toxone vorhanden sind, treten häufiger späte Todesfälle ein. Andererseits ist sehr auffallend, dass Kaninchen von den Toxonen sehr akut getötet werden (EHRLICH).

Die Toxonfrage bietet aber ferner noch ein großes theoretisches Interesse. Wenn wirklich die Toxone echte Haptine sind, d. h. Stoffe die ebenfalls haptophore Gruppen, identisch oder nahe verwandt mit den haptophoren Gruppen des echten Toxins, haben, so müssen sie, wenn die EHRLICHsche Seitenkettentheorie zu Recht besteht, auch Rezeptoren abspalten, d. h. immunisieren können.

Diese sehr interessante Frage ist von MADSEN & DREYER[3]) experimentell geprüft und bejaht worden. Es gelang ihnen bei mehreren Giften, die so weit durch Antitoxin neutralisiert waren (siehe oben), dass nur noch die Toxone in Freiheit waren, bei Meerschweinchen, Kaninchen, Ziegen und Pferden eine ziemlich hochwertige Immunität zu erzielen. Das Serum der so vorbehandelten Tiere enthielt ziemlich beträchtliche, freilich stark wechselnde Mengen Antitoxins, bei einem Pferd bis fast 400 I.-E. pro cm^3. Sie waren dann auch gegen große Dosen vollgiftigen Toxins immun, woraus man auf eine weitgehende Uebereinstimmung der haptophoren Gruppen der Toxone mit denen des echten Toxins schließen darf.

Eine Ausnahmestellung nahm das Kaninchen ein. Zunächst erwies sich das Tier als äußerst empfindlich. Mischungen, welche für Meerschweinchen nur noch Toxonwirkungen zeigten, weisen bei ihm noch akute Wirkungen auf; andererseits gingen den Forschern auch bei solchen Mischungen, die sicher nur noch Toxone frei enthielten, die meisten Tiere an den Spätlähmungen zu Grunde. Ein Tier indessen blieb am Leben und vertrug dann sehr große Toxonmengen, später auch mehrfache Multipla der tödlichen Toxindosis ohne Schaden: aber sein Serum

---

[1]) EHRLICH, Zur Wertbemessung des Diphtherieheilserums. Klin. Jahrb., VI.

[2]) MADSEN, Constit. du poison diphthérique. Ann. Past., XIII, 568 (1899).

[3]) MADSEN & DREYER, Ueb. Immunisierung mit d. Toxonen d. Diphtheriegiftes. Z. f. Hyg., 37, 249 (1901).

zeigte niemals auch nur die geringste Spur eines Antitoxingehaltes.

Eine Erklärung dieses merkwürdigen Phänomens ist bisher nicht zu geben; wenn man nicht zu der Annahme greifen will, dass zwar durch die aktive Immunisierung die Neubildung von schützenden Seitenketten angeregt, diese aber nicht frei in die Blutbahn abgestoßen werden (»sessile Rezeptoren« nach Ehrlich).

Infolge der geringeren Avidität des Diphtherietoxins wird es sehr viel langsamer von den Rezeptoren des Organismus verankert, d. h. es verschwindet nicht so rapide aus der Blutbahn wie das Toxin. Wir haben oben gezeigt, dass schon 15 Minuten nach einer Injektion der siebenfachen tödlichen Dosis Dönitz die Tiere durch eine das Gift in vitro genau neutralisierende Antitoxinmenge nicht mehr retten konnte.

Dreyer[1]) hat nun entsprechende Versuche mit den Toxonen angestellt. Nach 2 Stunden genügte die neutralisierende Menge Antitoxins noch stets, um eine sonst sicher nach 12—18 Tagen tödliche Toxondosis, beides bei Kaninchen intravenös appliziert, völlig unschädlich zu machen; bei 5 Stunden Zeitdifferenz zeigen sich die ersten Paresen, bei 10 Stunden treten sie stets auf, jedoch erst in 20—22 Tagen, bei 16—24 Stunden Zeitdifferenz ist das Antitoxin völlig machtlos.

Ein ähnliches Bild gaben Heilungsversuche, die Dreyer mit großen Antitoxinmengen in subkutaner Einführung beider Stoffe am Meerschweinchen angestellt hat. 24 Stunden nach der Injektion einer sicher nach 12—18 Tagen tödlichen Toxondosis genügte die fünffache Dosis, um den Tod zu verhüten, nicht stets die Paresen.

Von sieben Tieren, die nach 48 Stunden eine 5000—10000mal neutralisierende Antitoxindosis bekamen, bekam eins keine Paresen, die anderen leichte mit Ausgang in Heilung nach 18—25 Tagen.

4 × 24 Stunden und 21000fache Antitoxindosis ergab zwei tödliche Paresen, eine geheilte nach 18—21 Tagen. 5 × 24 Stunden, ebenfalls 21000fache Antitoxindosis: nach 16—29 Tagen drei letale, zwei geheilte Paresen. Das Toxon wird also relativ sehr langsam gebunden, und kann noch lange vom Antitoxin wieder beeinflusst, wahrscheinlich auch viel leichter als das Toxin aus der schon bestehenden Verbindung mit dem Receptor losgerissen werden.

Das Diphtherieantitoxin.

Das Diphtherotoxin erzeugt im Körper des Versuchstieres das ihm entsprechende Gegengift, das Antitoxin. Das Antitoxin, das also ein normales, nur im Ueberschuss produziertes Produkt des Körpers ist,

---

[1]) Dreyer, Ueber die Grenzen d. Wirkung d. Diphtherieheilserums gegenüber d. Toxonen. Z. f. Hyg., 37, 267 (1901).

findet sich demzufolge bei Individuen, die Diphtherie überstanden haben, oder bei künstlich immunisierten Tieren in den Gewebssäften und Sekreten. Die Art der Antitoxinproduktion und seine Beziehungen zur künstlichen Immunität und zur Heilserumtherapie können uns hier nicht beschäftigen; nur dasjenige, was wir über das Diphtherieantitoxin als solches wissen, kann hier geschildert werden.

Die beiden Hauptquellen zur künstlichen Gewinnung des Antitoxins sind das Blutserum und die Milch immunisierter Tiere. Je höher das Tier aktiv immunisiert ist, desto reicher ist der Gehalt dieser Flüssigkeiten an Antitoxin, desto größer die Aussicht, das Antitoxin, wenn auch nicht rein, so doch in konzentriertem Zustande aus ihnen zu gewinnen.

Das Antitoxin findet sich in größeren Mengen nur im Serum künstlich immunisierter Tiere, jedoch hat man es natürlich auch, wenn auch weniger reichlich, im Blute von Diphtherierekonvaleszenten gefunden.

Besonders interessant ist aber, dass auch das normale Serum vieler Tierarten Diphtherieantitoxin enthält, dass also auch normalerweise haptophore Seitenketten sich in der Blutbahn vorfinden. A. Wassermann[1]) hat als der erste bei 85 % der Erwachsenen und 60 % der Kinder Antitoxin gefunden. Auch im Pferdeserum hat man öfters Antitoxin gefunden, so z. B. Dieudonné[2]) und Cobbett[3]).

Sehr wichtig zur Erklärung der Thatsache, dass Säuglinge seltener an Diphtherie erkranken, ist der im Anschluss an Wassermann erhobene Befund von Fischl & v. Wunschheim[4]), dass bereits das Serum gesunder Säuglinge ziemlich reichliche Mengen Diphtherieantitoxin enthält; sie fanden es bei 83 % aller untersuchten Kinder. Die Uebereinstimmung mit den von A. Wassermann gefundenen Zahlen weist darauf hin, dass es sich hier um eine Uebertragung des Antitoxins auf den Säugling mittels des Placentablutes und der Milch seitens der Mutter handelt.

Wie bei dem Toxin muss man hier zwei Bestrebungen unterscheiden: diejenigen, die nur zu praktischen Zwecken eine Konservierung und Konzentrierung des Antitoxins anstreben, mit oder ohne Gewinnung eines festen Produktes; andererseits die Versuche, die man gemacht hat, durch sorgfältigere Untersuchungen einen Einblick in die Konstitution des Antitoxins an sich zu gewinnen, durch Prüfung seines Zusammenhangs mit den verschiedenen Eiweißstoffen seiner Mutterflüssigkeiten und durch möglichste Isolierung des wirksamen Prinzips.

---

[1]) A. Wassermann, Ueb. d. pers. Prophylaxe geg. Diphth. Z. f. Hyg., XIX, 408 (1895).

[2]) Dieudonné, Ueb. Diphtheriegift neutralis. Wirkung d. Serumglobuline. Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, XIII, 293 (1897).

[3]) Cobbett, Enthält das normale Pferdeserum Antitoxin? C. f. Bakt., 26, 458 (1899), s. a. Lancet, 1899, II, 332.

[4]) Fischl & v. Wunschheim, Ueb. Schutzkörper im Blute der Neugeborenen. Prager med. Woch., 1895, Nr. 45ff.

Die Aufbewahrung des Serums.

Die erste Forderung ist die Konservierung des Serums unter Vermeidung von Zersetzungen und unter Erhaltung seines Gehaltes an Antitoxin. Das Serum bleibt ziemlich lange beständig, wenn man es vor Luft, Licht und bakterieller Verunreinigung schützt. Da das Serum ein guter Nährboden für Bakterien ist, so muss man es unter streng aseptischen Kautelen gewinnen und aufbewahren. Außerdem setzt man meist noch ein Antisepticum, z. B. Phenol bis zu 0,5proz. Lösung zu.

Sterilisierung durch Filtration ist nach di Martini[1]) unzweckmäßig, da ein sehr beträchtlicher Teil des Antitoxins im Chamberland-Filter zurückgehalten wird. Dies ist von Dzierzgowski[2]) rundweg geleugnet worden. Cobbett[3]) hat diese praktisch ungemein wichtige Frage gründlich studiert und giebt an, dass eine solche Retention, besonders bei Berkefeld- oder Martin-Filter häufig vorkommt und recht beträchtlich werden kann, zumal dann, wenn die Poren des Filters anfangen verstopft zu werden. Man soll also die Filtration nicht forcieren; wenn sie nicht leicht, ohne hohen Druck von statten geht, ist sie sehr spärlich. Durch Gelatinefilter wird das Antitoxin zurückgehalten (Brodie[4]).

Durch Erhitzen bis zum Sieden wird das Antitoxin rasch zerstört. Schon 60—70° sind schädlich (van de Velde[5]). Das getrocknete Antitoxin dagegen verträgt 110° eine halbe Stunde, 140° eine viertel Stunde (Camus[6]).

Niedere Temperaturen verträgt es einigermaßen. Spronck[7]) hat es auf 59° behufs Sterilisierung erwärmt, ohne dass seine antitoxische Kraft wesentlich geschwächt wurde. Temperaturen bis 36° sind gleichgiltig (Palmirski & Orlowski[8]), nach Müller[9]) jedoch in längeren Zeiträumen (2 Monate) sehr schädlich.

Gegen tiefe Temperaturen scheint es unempfindlich zu sein (Bujwid[10]).

---

1) di Martini, Sul comportamento del siero antidifterico filtrato. Rif. med.. 1896, Nr. 266; ref. C. f. Bakt., 24, 861 (1898).

2) Dzierzgowski, Z. Frage: »Ueb. die Verluste des Diphth.-Heils. bei der Filtration«. C. f. Bakt., 21, 333 (1897).

3) Cobbett, Der Einfluss der Filtration auf das Diphth.-Antitoxin. C. f. Bakt., 24, 386 (1898).

4) Brodie, Journ. of pathol., 1897, 460. Cit. n. Martin & Cherry, The antagonism between toxins and antitox. Proc. Roy. Soc., 63, 420 (1898).

5) van de Velde, Beitr. z. Kenntnis der antitox. Kraft d. antidiphth. Serums. C. f. Bakt., 22, 527.

6) Camus, Resistance aux temp. élévées des vaccins desséchées. Soc. Biol., 50, 235 (1898).

7) Spronck, Chauffage du sérum antidiphthérique. Ann. Past., XII, 695 (1898).

8) Palmirski & Orlowski, Medycyna 23. Ref. C. f. Bakt., 19, 916.

9) Müller, Ueber d. Resistenz d. Diphtherieheilserums gegenüber verschiedenen Einflüssen. C. f. Bakt., 24, 251 (1898).

10) Bujwid, Ueb. e. Methode d. Concentrat. d. diphth. Heils. mittelst Ausfrieren. C. f. Bakt., 22, 287 (1897).

Direktes Sonnenlicht und vermehrte Luftzufuhr (langes Schütteln) sind schädlich (PALMIRSKI & ORLOWSKI l. c.). MÜLLER (l. c.) fand gelbes und rotes Licht selbst bei monatelanger Einwirkung unschädlich, blaues und grünes dagegen sehr schädlich, ebenso Tageslicht bei langer Einwirkung, während es MARENGHI[1]) bei kurzer Dauer gleichgiltig fand. Alle Gase fand MÜLLER auf die Dauer sehr schädlich, so dass er empfiehlt, die Röhrchen möglichst voll ohne größere Gasmengen aufzubewahren. Am besten wird es also im Dunklen, auf Eis, unter Luftabschluss und vor Verunreinigung geschützt, aufbewahrt. Die festen Antitoxinpräparate werden nach EHRLICH außerdem noch durch Phosphorsäureanhydrid vor Feuchtigkeit im Vacuum bewahrt und sind dann durch Jahre hindurch haltbar.

SPRONCK[2]) giebt an, dass Diphtherieheilserum, das auf 58° erwärmt und zwanzig Minuten bei dieser Temperatur gehalten wird, nicht mehr die Eigenschaft hat, unangenehme urticariaähnliche Erytheme zu erzeugen, wie es das nicht erwärmte Serum häufig thut.

Im Verdauungskanal scheint es zerstört zu werden. DZIERZGOWSKI[3]) fand, dass eine Immunisierung durch Zuführung von Antitoxin per os nicht zu erzielen ist. Nur bei Kaninchen kann man durch Eingießung in den leeren Magen eine geringe Resorption konstatieren.

Besonders schädlich wirkt die Salzsäure; dagegen sind neutralisiertes Pepsin, auch Pankreas und Galle ziemlich unschädlich. Trotzdem wird es vom Darm aus nicht resorbiert.

Es muss wohl doch allmählich unter dem Einflusse der Verdauungsfermente langsam zerstört werden, denn absolut ist seine Resistenz gegen Trypsin nicht. Wenigstens fand PICK (l. c.), dass nach neuntägiger Trypsinverdauung das Antitoxin doch schon beträchtlich zerstört war, nämlich fast zu $^2/_3$.

Auch bei subkutaner Injektion verschwindet es bald aus dem Blute, wie PASSINI[4]) zeigte, der eine teilweise Bindung in den Geweben zur Erklärung annimmt.

BOMSTEIN[5]) hat sich mit der Frage nach dem Verbleib des Antitoxins beschäftigt. Nach einmaliger Einführung einer Quantität Heilserum verschwindet es bald wieder aus dem Blute.

Wo es verbleibt, ist nicht anzugeben, es scheint aber zerstört zu

---

[1]) MARENGHI, Ueb. die gegenseitige Wirkung des antidiphth. Serums und des Diphth.-Toxins. C. f. Bakt., 22, 520 (1897).

[2]) SPRONCK, Chauffage du sérum antidiphth. Ann. Past., XII, 697 (1898).

[3]) DZIERZGOWSKI, Die Bezieh. d. Verdauungsfermente zum Antidiphtherieserum. Arch. d. sciences biolog., VII, 337. (Malys Jb., 1899, 957.)

[4]) PASSINI, Vers. über die Dauer d. antidiphth. Schutzimpfung. Wien. klin. Woch., 1896, S. 1111.

[5]) BOMSTEIN, Z. Frage der passiven Immunität bei Diphtherie. C. f. Bakt., 22, 587 (1897).

werden, denn der Harn enthielt nur in den ersten Tagen geringe Spuren; ebensowenig lässt es sich sicher in den Organen nachweisen.

Interessant ist eine Beobachtung von MURAWJEW[1]), dass das Heilserum durchaus nicht indifferent ist, sondern ziemlich schwere Schädigungen der Zellen des Rückenmarkes beim Meerschweinchen hervorruft. Er warnt deshalb davor, zu große Dosen auf einmal zu geben.

Doch ist dies zweifellos auf Rechnung des Serums der fremden Tierart, nicht auf die des Antitoxins zu setzen, da auch normales Serum ähnliche Schädigungen bewirkt, wenn auch die Annahme von LINOSSIER & LEMOINE[2]), dass schon ganz kleine Mengen normales Pferdeserum bei Kaninchen schwere Erkrankungen, langdauernde Albuminurie hervorruft, nach meinen Erfahrungen zweifellos falsch ist.

Konzentrierung des Antitoxins.

Bald nach der Gewinnung der ersten wirksamen Antitoxinsera hat man dann auch angefangen, Versuche zur Isolierung des Antitoxins zu machen.

Zunächst handelte es sich rein praktisch um die Gewinnung fester Stoffe, die die spezifische Fähigkeit des Antitoxins nicht verloren hatten. Zu diesem Zwecke schlug man meist einfach das Antitoxin mit den Eiweißkörpern des Serums zusammen nieder, z. B. durch konzentriertes Ammoniumsulfat, und trocknete diese Niederschläge bei niederer Temperatur im Vacuum. So erzielte man ziemlich wirksam gebliebene Trockenpräparate des Antitoxins, aus denen man dann durch Ausschütteln mit ganz schwachen Alkalien Lösungen des Antitoxins von bis hundertfacher Stärke gegenüber dem einfachen Serum gewann.

ARONSON[3]) verfuhr z. B. folgendermaßen:

Zu 100 cm³ des Serums wurden 100 cm³ Wasser und 70 cm³ einer 10proz. Aluminiumsulfatlösung zugesetzt. Dann wurde mit Ammoniak gefällt, so dass die Reaktion gerade noch schwach sauer war. Es entsteht ein Niederschlag, der mit 150—200 cm³ kalten Wassers gewaschen wird. Er enthält bis 95% des Antitoxins. Aehnliche Niederschläge kann man durch Zinksulfat und Ferrocyankalium, Eisenchlorid und Ammoniak gewinnen. Diese Niederschläge werden mit dem hundersten Teil (auf das ursprüngliche Serum) ganz schwacher Alkalien, die eben Lackmuspapier blau färben, im Schüttelapparat längere Zeit und mehrfach wiederholt geschüttelt.

BUJWID[4]) lässt das Serum gefrieren, wobei sich zunächst reines Wasser in Krystallen abscheidet, während eine sehr antitoxinreiche,

---

[1]) MURAWJEW, Das Diphtherietoxin u. -Antitoxin in ihrer Wechselwirkung auf das Nervensystem d. Meerschweinchens. Fortschr. d. Med., 1898, 93.

[2]) LINOSSIER & LEMOINE, Action nephrotoxique des inj. d. sérums normaux. Soc. Biol., 55, 515 (1903).

[3]) ARONSON, Weit. Unters. über Diphtherie. Berl. klin. Woch., 1894, 425.

[4]) BUJWID, Ueb. e. Methode z. Concentr. d. Diphtherieheils. mittelst Ausfrieren. C. f. Bakt., 22, 287.

trübe Lösung zurückbleibt. Man kann dann entweder abcentrifugieren oder langsam auftauen, wobei zwei Schichten resultieren, so dass man die obere, reines Wasser enthaltende Schicht abheben kann. Zu ganz analogen Resultaten gelangten gleichzeitig ERNST, COOLIDGE & COOK[1]).

BRIEGER & BOER[2]) fanden, dass zur Isolierung von Diphtherieantitoxin der Niederschlag von phosphorsaurem Kalk und von Schwermetallhydraten unbrauchbar ist. Auch die Methode, nach der TIZZONI sein Tetanusantitoxin isoliert hat (s. d.), nämlich Aussalzen mit festem Magnesiumsulfat bei 30°, erzielte eine Ausbeute von höchstens 50%. BRIEGER & BOER erzielten dagegen mit folgendem Verfahren eine quantitative Ausbeute:

Zu 10 cm³ Immunserum setzt man 10 cm³ destilliertes Wasser, ferner 4 g trockenes Chlorkalium und 4—5 g fein zerriebenes Chlornatrium und lässt dies Gemisch 18—20 Stunden im Brutschrank stehen. Dann löst man in Wasser und dialysiert. Manchmal ballt sich der Niederschlag beim Anrühren mit Wasser fest zusammen und giebt kein Antitoxin an dasselbe ab. Dann kann man es nur mit schwachem Alkali ausziehen. Eine nähere Erklärung dieser Anomalie ist nicht zu geben. Nach dem Wiederauflösen setzt man das gleiche Volumen fein zerriebenes Magnesiumsulfat zu und lässt nochmals 2—3 Stunden im Brutschrank stehen. Dadurch wird das Antitoxin quantitativ ausgefällt. Sie erhielten so aus 10 cm³ 0,2 g wirksame Trockensubstanz.

BRIEGER & BOER haben ferner versucht, durch Fällung mit Schwermetallsalzen das Antitoxin zu konzentrieren. Besonders Zinksalze erwiesen sich als geeignet.

Das Serum wurde mit der fünffachen Menge Wasser verdünnt und der doppelten Menge 1proz. Zinksulfat oder Zinkchloridlösung gefällt, der Niederschlag mit Wasser gewaschen. Dann mit $^1/_{400}$ N. Alkalilauge in Lösung gebracht, das Zink durch Einleiten von Kohlendioxyd gefällt. Dabei stellte es sich heraus, dass bei der Fällung mit Zinksulfat das Antitoxin mit dem Zink ausfiel, bei Zinkchlorid dagegen in Lösung blieb. Der das Antitoxin enthaltende Anteil wird im Exsiccator getrocknet. Dabei werden die Zinkalbuminate etwas in Wasser löslich, das Zinkantitoxin nicht. Es wird also wieder in verdünntem Alkali gelöst und das Zink wieder mit Kohlensäure ausgeschieden. Eine völlige Trennung vom Zink ist dadurch nicht zu erzielen.

Aus der Milch immunisierter Tiere haben zuerst BRIEGER & EHRLICH[3]) wirksame Trockenpräparate mittelst Ammonsulfat gewonnen. Sie erhielten ein Präparat, das 14% Ammonsulfat enthielt und 400—600 mal so wirksam als die ursprüngliche Milch war.

---

[1]) ERNST, COOLIDGE & COOK, The effect of freezing upon the antidiphth. serum. Journal Boston med. soc., II, 166. Baumgartens Jb., 1898, 242.

[2]) BRIEGER & BOER, Ueber Antitoxine und Toxine. Z. f. Hyg., 21, 259.

[3]) BRIEGER & EHRLICH, Beitr. z. Kenntn. d. Milch immuner Tiere. Z. f. Hyg., XIII, 336 (1893).

Wassermann[1]) hat diese Methode etwas modifiziert. Er benutzte folgendes Verfahren:

Die steril aufgefangene Milch wird mit ca. 20 cm³ Normalsalzsäure per Liter versetzt, durch Labferment möglichst schnell zum Gerinnen gebracht, und das ausgeschiedene Parakaseïn abfiltriert. Die Molke wird dann kräftig mit Chloroform geschüttelt. Das mit Chloroform imbibierte Fett und die Bakterienleiber der Milch setzen sich ab und die Flüssigkeit wird davon dekantiert. Dann werden je 5 Liter der Molke mit der durch einen Vorversuch gefundenen, berechneten Menge 30—33proz. Ammonsulfatlösung gefällt, der Niederschlag auf Thon im Vacuum bei 35° getrocknet, vom festen Ammonsulfat möglichst getrennt, und in Wasser zu der gewünschten Konzentration gelöst. Eine Dialyse ist nicht erforderlich, da die dann noch vorhandenen geringen Mengen Ammonsulfat in der Verdünnung indifferent sind.

Die Versuche, aus dem flüssigen Serum Antitoxinpräparate zu gewinnen, sind heute insofern praktisch ziemlich wertlos geworden, als man es heute vorzieht, die Tiere so hoch zu immunisieren, dass das Serum der Tiere selbst so viel Antitoxineinheiten im Kubikcentimeter enthält, dass eine Konzentrierung unnötig ist.

Dagegen hat man mit gleichem Interesse die wissenschaftliche Seite der Frage weiter behandelt und hat versucht, das Antitoxin als solches möglichst zu isolieren und zu konstatieren, ob es als eigener Stoff darzustellen ist und an welchen Eiweißkörpern des Serums es gebunden ist. Außerdem hat man sich bemüht, Unterschiede zwischen dem einfachen und dem antitoxinhaltigen Serum aufzufinden.

Szontagh & Wellmann[2]) haben das normale und das antitoxische Pferdeserum einer Vergleichung unterzogen. Sie fanden in beiden kein Nukleoalbumin, der Globulingehalt war derselbe, ebenso Aschen- und Chlorgehalt und spezifisches Gewicht. Als einzigen Unterschied fanden sie, dass das Heilserum durchschnittlich ca. 0,25 % mehr Gesamteiweiß enthält als das normale; sie schreiben indessen mit Recht diesem Unterschiede keine wesentliche Bedeutung zu. Dagegen glauben sie gefunden zu haben, dass das Heilserum eine Abnahme der Gefrierpunktserniedrigung und der elektrischen Leitfähigkeit zeigt, die anscheinend proportional dem Antitoxingehalt ist. Freund & Sternberg[3]) haben versucht, das Antitoxin möglichst zu isolieren.

Das Heilserum wird mit Kaliumalaun gefällt und dialysiert. Zinksalze gaben im Dialysat keinen Niederschlag. Durch Zusatz von kohlensaurem oder phosphorsaurem Alkali wird das Antitoxin mit dem entstehenden Zink-

---

1) Wassermann, Ueb. Concentrierung v. Antitoxin aus Milch. Z. f. Hyg., XVIII, 236 (1894).

2) Szontagh & Wellmann, Vergleichende chem. Unters. üb. d. normale Pferdeserum und das Diphtherieheilserum. D. med. Woch., 1898, 421.

3) Freund & Sternberg, Ueber Darstellung des Heilkörpers aus d. Diphtherieheilserum. Z. f. Hyg., 31, 429 (1899).

niederschlage nicht mitgefällt, wohl aber durch Laugenzusatz mit dem Zinkhydroxyd. Aus diesem lässt es sich durch schwaches Alkali im Ueberschuss, so dass gerade Phenolphtaleïn gefärbt wird, ausziehen. Barytlösung ist nicht anwendbar, da sie das Antitoxin zerstört. Auch mit Eisensalzen ist kein befriedigendes Resultat zu erzielen. Dann wird mit Magnesiumsulfat bei Zimmertemperatur gesättigt, wodurch das Antitoxin quantitativ gefällt wird. Nach erneutem Ausziehen mit Alkali und Dialyse wird es im Vacuum getrocknet.

Oder aber sie verfahren mit noch besserem Resultate folgendermaßen: Das Serum wird zunächst mit dem dritten Teile seines Volumens 5proz. Kaliumalaunlösung versetzt. Dabei fallen die Albumine aus, das Antitoxin bleibt vollkommen in der Lösung. Nach dem Filtrieren wird die Lösung dialysiert. Aus dem Dialysat werden die Globuline und mit ihnen das Antitoxin durch Halbsättigung mit Ammonsulfat ausgeschieden und mit halbgesättigter Ammonsulfatlösung gewaschen. Dann wird der Niederschlag wieder in Wasser gelöst und dialysiert, im Vacuum eingeengt und filtriert.

Sie erhielten so aus 500 cm^3 Serum 9 g Trockensubstanz in Gestalt einer braunroten, leimähnlichen Masse. Sie löst sich langsam in Wasser (4,7 g in 16 cm^3) zu einer syrupösen, braunroten Flüssigkeit, die leicht getrübt erscheint und langsam filtriert. Sie enthält dann das Antitoxin gegenüber dem unfiltrierten Präparat in unveränderter Menge. Zusatz von Karbolsäure ist unschädlich. Es verhält sich ähnlich wie ein Globulin.

ASTROS & RIETSCH [1]) wollen das Antitoxin fast quantitativ aus dem Serum gewonnen haben.

Sie verdünnen das Heilserum auf das Fünffache, setzen dann soviel Chlornatrium und Chlorkalium zu, dass die Lösung 20prozentig wird und lassen bei 33° unter Zusatz von 0,5 % Phenol 24 Stunden stehen.

Von praktischer Bedeutung können vielleicht die theoretisch wichtigen Versuche von PICK werden, der zeigte, dass man durch ca. 1/3 Sättigung mit Ammonsulfat einen Teil der Globuline ohne Heilwert abscheiden kann, während der wirksame Antikörper bei 38—46% fällt. Er erzielt damit eine Konzentrierung um das 10—15fache. Wir werden auf die Bedeutung dieser Arbeit unten zurückkommen.

Ebenfalls praktische Bedeutung nehmen die Bemühungen von PRÖSCHER [2]) in Anspruch, der mit Hilfe der Trypsinverdauung das Antitoxin von überflüssigem Eiweißballast befreit haben will.

Besonderes Interesse bereitet die Frage, ob das Antitoxin als eigener Stoff im Blute kreist, ob es als solcher ein Eiweißkörper ist oder nicht, oder ob es an einen bestimmten Eiweißkörper des Blutes gebunden ist. Damit im Zusammenhang steht die Frage, ob seine Ausfällung mit fallenden Eiweißniederschlägen ein einfaches Mitreißen ist, oder ob hier chemische Fällungsreaktionen spezifischer Natur stattfinden.

---

[1]) ASTROS & RIETSCH, Essais d'extraction de l'antitox. diphth. Soc. Biol., 52, 337 (1900).

[2]) PRÖSCHER, Patentanmeldung F. 13756 (20. VI. 1902).

A priori ist es wohl sehr wahrscheinlich, dass das Antitoxin ein Eiweißkörper ist, da es ja nach der Theorie ein Bestandteil des Zellprotoplasmas ist. Es liegt hier auch nicht wie bei den Toxinen irgend ein Grund vor, das Antitoxin als ein fermentähnliches Agens anzusprechen. Es wirkt ja im Gegenteil an sich absolut nicht, weder toxisch noch fermentativ, es bindet nur das toxische Ferment der Bakterien, und es ist eine ganz unbegründete Verallgemeinerung, die Fermentnatur der Toxine ohne weiteres auf ihre spezifischen Gegengifte zu übertragen. Dem Antitoxin fehlt, um im Bilde zu bleiben, jede spezifische Gruppe außer der haptophoren, es hat weder eine toxophore noch eine zymophore Gruppe; es ist zwar ein Haptin, aber nur mit einer, der haptophoren Gruppe. In der That spricht vieles gegen die Fermentnatur des Antitoxins. Dafür kann man eigentlich nur anführen, dass es bei 100° unwirksam wird, doch ist das kein genügender Grund. Dagegen aber und im gleichen Sinne dafür, dass es ein spezifischer Eiweißkörper ist, spricht die Thatsache, dass es nicht wie die Fermente von Niederschlägen einfach mitgerissen wird, sondern dass es wohlcharakterisierte Fällungsreaktionen zeigt. Wie schon Brieger & Boer (l. c.) fanden, wird das Antitoxin mit kohlensaurem Zink nur dann mitgerissen, wenn es vorher durch Zinksulfat gefällt war, nicht aber, wenn Zinkchlorid zu diesem Zwecke benutzt war. Ebenso konnten Freund & Sternberg zeigen, dass von dem massigen Niederschlage, den man mittelst Kaliumalaun in dem Serum erzeugen kann, und der alle Albumine herausfällt, das Antitoxin nicht mitgerissen wird.

Anscheinend ist also das Antitoxin an einen der Eiweißstoffe des Blutes entweder wirklich gebunden oder wir müssen annehmen, dass der Eiweißstoff selbst, der das Antitoxin darstellt, sich in seinen Reaktionen so eng an einen Eiweißkörper des Serums anschließt, dass man ihn nur sehr schwer davon unterscheiden kann.

In neuerer Zeit hat allerdings Pröscher (l. c.) angegeben, ein Diphtherieantitoxin hergestellt zu haben, das keinerlei Eiweißreaktionen mehr zeigt. Man wird der weiteren Entwicklung dieser Frage mit lebhaftem Interesse entgegensehen. Die weitere Frage, mit welchen Eiweißkörpern des Serums das Antitoxin zusammenhängt, ist zu Gunsten der Globuline entschieden worden.

Belfanti & Carbone[1]) fanden zuerst, dass das Antitoxin von den Globulinen mitgefällt wird, wenn man sie durch Ammonium- oder Magnesiumsulfat ausfällt, nicht aber durch Essigsäure. Ebenso fand Smirnow[2]) das Antitoxin in dem durch Magnesiumsulfat ausgeschiedenen Globulinniederschlag.

---

1) Belfanti & Carbone, Contributo alla conoscenza dell' antitossina difterica. Arch. per le scienze med., 22, Nr. 2. Ref. C. f. Bakt., 23, 1898.

2) Smirnow, Note sur la détermin. du pouvoir antitoxique du sérum antidiphthérique. Arch. d. scienc. biolog. de St. Pétersbourg, IV, Nr. 3 (1895).

Dagegen fand DIEUDONNÉ[1]) die Globuline, die er durch Essigsäure und Kohlensäure abgeschieden hatte, völlig wirkungslos. Bei der Dialyse zeigten die abgeschiedenen Globuline nur sehr wenig schützende Kraft, das meiste blieb im Filtrat. Fällte er dagegen mit Magnesiumsulfat, so blieb das ganze Antitoxin im Niederschlag. Ganz ähnlich verhielten sich die Globuline des normalen Serums, das auch eine geringe antitoxische Kraft besaß.

Andererseits fanden wieder HISS & ATKINSON[2]), sowie ATKINSON[3]), dass das Antitoxin quantitativ durch Magnesiumsulfat mitgefällt wird, und dass das Immunserum einen reichlicheren Niederschlag ergiebt, als normales Serum.

IDE & LEMAIRE[4]) geben an, dass das Antitoxin bei einer Sättigung von 28—44 % Ammonsulfat mit ausfällt.

Diese scheinbaren Widersprüche in Bezug auf die Rolle der Globuline hat SENG[5]) befriedigend aufgeklärt.

Er konnte nämlich zeigen, dass es im Heilserum zwei Arten von Globulinen giebt, wie gleichzeitig mit ihm MARCUS[6]) für das normale Serum zeigte, nämlich unlösliche Globuline, die durch Essigsäure, Kohlensäure, Verdünnen mit Wasser und Dialyse fällbar sind, während eine zweite Kategorie, die löslichen Globuline, nur durch die übrigen Globulinreagentien, besonders Ammonium- und Magnesiumsulfat fällbar sind. An diese letzteren ausschließlich ist das Antitoxin gebunden, so dass es bei der Fällung durch Dialyse, Kohlensäure u. s. w. im Filtrat bleibt; dadurch sind die Widersprüche in den Arbeiten von BELFANTI & CARBONE und DIEUDONNÉ erklärt.

SENG verfährt bei der Isolierung seiner »löslichen Globuline« folgendermaßen:

Aus dem Serum werden zunächst durch fünfprozentige Kaliumalaunlösung die Albumine abgeschieden, die gar kein Antitoxin binden. Das Filtrat (feuchte Faltenfilter) wird dialysiert. Dabei fallen geringe Mengen unlöslicher Globuline aus, die ebenfalls kein Antitoxin enthalten ($^1/_{11}$—$^1/_{23}$ der gesamten Globulinmenge). Dieser Niederschlag wird durch feuchte Faltenfilter filtriert und mit Wasser ausgewaschen. Das Filtrat darf mit einem großen Ueberschuss von destilliertem Wasser keine Trübung ergeben, sowie keine Schwefelsäurereaktion. Nun wird mit Magnesiumsulfat bei 30° oder durch Halbsättigung mit Ammonsulfat das Globulin gefällt, wieder gelöst und nach den üblichen Methoden (s. o.) weiter behandelt. Es enthält etwas mehr Asche

---

1) DIEUDONNÉ, Ueb. Diphtheriegift neutralisier. Wirkg. der Serumglobuline. Arb. a. d. kaiserl. Ges.-Amt, XIII, 293 (1897).

2) HISS & ATKINSON, Serumglobulin and Diphteric antitoxin. Journ. of exper. med., V, 47 (1901).

3) ATKINSON, The fractional precipitation of the globulins and albumins of normal horse serum and diphteric antitoxic serum. Journ. of exper. med., V, 67 (1901).

4) IDE & LEMAIRE, Ét. s. l. repartition de l'antitoxine dipht. etc. Arch. internat. d. Pharmacodyn., VI, 477.

5) SENG, Ueb. d. qualit. u. quantit. Verhältnisse d. Eiweißkörper im Diphtherieheilserum. Z. f. Hyg., 31, 513 (1899).

6) MARCUS, Ueb. in Wasser lösl. Serumglobulin. Z. f. phys. Ch., 28, 559 (1899).

als die direkt aus dem Serum mit Ammonsulfat gefällten Globuline, besonders Spuren von Aluminium.

Die Menge dieser löslichen Globuline gegenüber dem normalen Serum scheint sich auf Kosten der unlöslichen Globuline etwas vermehrt zu haben, doch ließ sich das nicht einwandsfrei erweisen.

SENG hat sich auch der sehr wichtigen Frage angenommen, ob sich zwischen dem so gewonnenen löslichen Globulin des Heilserums und dem auf demselben Wege dargestellten des normalen Serums chemische Unterschiede nachweisen lassen. Mit absoluter Sicherheit ist ihm dies, wie vorauszusehen, nicht gelungen, doch hat es den Anschein, als ob allerdings zwei wichtige Konstanten, nämlich die spezifische Drehung und die Koagulationstemperatur beim Antitoxinglobulin höher sind als beim Normalglobulin. SENG bemerkt selbst mit vollem Recht, dass die physiologische Breite aller dieser Faktoren viel zu groß ist, um sichere Differenzen zwischen den Seris verschiedener Tiere aufzufinden; man müsste das Serum eines Tieres vor, während und nach der Immunisierung untersuchen. Dann könnte man vielleicht zu einem Resultat gelangen.

Diese Fragen sind inzwischen durch eine Reihe von Arbeiten der HOFMEISTERschen Schule weiteren gründlichen Untersuchungen unterzogen worden.

Durch fraktionierte Ausfällung mit Ammonsulfat gelingt es nämlich, aus dem Blutserum drei verschiedene Arten von Globulinen zu trennen. Zunächst fällt bei einer Sättigung bis zu 21,5 Volumprozent Ammonsulfat das Fibrinoglobulin; bei einer Sättigung von 28 bis 36 Volumprozent fallen nach FULD & SPIRO[1]) die von HOFMEISTER so genannten Euglobuline, bei 36—44 Volumprozent die Pseudoglobuline. Die Pseudoglobuline, die sich in Wasser klar lösen, entsprechen den »löslichen Globulinen« MARCUS' & SENGS.

PICK[2]) konnte nun nachweisen, dass weder das Fibrinoglobulin, noch diejenigen Eiweißmengen, die bei weiterem Zusatz von gesättigter Ammonsulfatlösung bis zu 36 % ausfallen, bei ihrer Abscheidung aus Diphtherieheilserum vom Pferde irgend welche antitoxische Wirkung besitzen.

Nur der Anteil, der bei einer höheren Sättigung, von 38 % ab, ausfällt, enthält das Antitoxin.

Die wässrige Lösung dieses Stoffes gab bei einem Gehalt von 3,6 % gesättigter Ammonsulfatlösung nur eine minimale Trübung, bei 38 % schied sich ein dichter Niederschlag ab, der $^1/_3$—$^1/_4$ des gesamten Antitoxingehaltes enthielt, bei 42 % enthielt der Niederschlag schon $^5/_6$, bei 46 % den vollen Betrag des Antitoxins. Das Filtrat, das nur noch Serumalbumin enthält, schützt gar nicht.

---

1) FULD & SPIRO, Ueb. labende u. labhemmende Wirkung d. Blutes. Z. f. phys. Ch., 31, 132, (1900).

2) PICK, Z. Kenntnis d. Immunkörper. Hofm. Beitr. z. chem. Phys., I, S.A. (1902).

Es ist also beim Immunserum des Pferdes das Antitoxin an das Pseudoglobulin gebunden. Dagegen ist es im Ziegenimmunserum an das Euglobulin gebunden, ebenso in der Ziegenmilch, wo die Schutzstoffe, wie oben schon erwähnt, bei einer Sättigung mit 27—30 % Ammonsulfat bereits ausfallen.

Es sei hier nochmals darauf hingewiesen, dass die Euglobuline wasserunlöslich sind, also bei der Dialyse ausfallen; daher rühren die großen Verluste, die Wassermann und Brieger & Cohn bei ihren Versuchen hatten, durch Ammonsulfat und darauffolgende Dialyse das Antitoxin aus der Ziegenmilch zu konzentrieren (s. o.).

Das Tetanustoxin.

Das spezifische krampferregende Gift, das die Nicolaierschen Bazillen des Tetanus in ihren Kulturen bilden, ist nicht das einzige Toxin dieser Mikroben. Sie produzieren außer dem Tetanusgift im engeren Sinne noch ein anderes echtes Toxin, das auf Blutkörperchen lösend wirkt, das Tetanolysin, das uns später näher beschäftigen wird, sowie möglicherweise noch andere Gifte nicht toxinähnlicher Natur.

Hier interessiert uns zunächst nur das eigentliche, krampferzeugende Gift, das Tetanospasmin. Es ist zweifellos ein echtes Toxin mit haptophoren und toxophoren Gruppen, in seinen wesentlichsten Eigenschaften dem Diphterotoxin sehr nahestehend, und wie dieses für unsere theoretischen Auffassungen sehr wertvoll.

Das spezifische krampferzeugende Gift des Tetanus ist schon frühzeitig aus den Kulturen nach denselben Methoden isoliert worden, wie das Diphtheriegift. Fast gleichzeitig Kitasato & Weyl [1]) und Brieger & Fränkel (l. c.) stellten aus den Kulturen ihr Toxalbumin her, das sie als spezifisches, im Wasser lösliches Gift erkannten. Durch Filtration aus den noch nicht reinen Kulturen erhielt zuerst Faber [2]) ein wirksames Gift, an dem er bereits die wesentlichsten Eigenschaften des Tetanustoxins erkannte.

Dann wurden nähere Angaben über das Tetanustoxin von Tizzoni & Cattani [3]), Kitasato [4]), Vaillard [5]) und seinen Mitarbeitern gemacht.

---

[1]) Kitasato & Weyl, Zur Kenntnis der Anaëroben. Zeitschr. f. Hyg., VIII. 404 (1890).

[2]) Faber, Die Pathogenese des Tetanus. Berl. klin. Woch., 1890, 717.

[3]) Tizzoni & Cattani, Sur le poison du tétanos. Arch. ital. d. biolog., XIV, 101 (1890).

[4]) Kitasato, Exper. Unters. über das Tetanusgift. Z. f. Hyg., X, 287 (1891).

[5]) Vaillard, Sur l'immunité contre le tétanos. Soc. Biol., 43, 147 (1891). — Vaillard & Vincent, Contrib. à l'étude du tétanos. Ann. Past., V, 1 (1891). — Vaillard & Rouget, do., ibid., 385. — Vaillard, Sur quelques points concernant l'immunité contre le tétanos. Ann. Past., VI, 224 (1892).

Die Bakterien liefern auf einfacher Bouillon und auf Blutserum bei anaërobem Wachstum sehr giftige Toxine. Besonders wirksame Giftlösungen erhielten VAILLARD & VINCENT, wenn sie erst eine Kultur 18 Tage lang auf einem Nährboden wachsen ließen und dann filtrierten. Neue Aussaat auf diesem Nährboden ist unfruchtbar; setzt man aber etwas neue Nährflüssigkeit zu, so erzeugt eine neue Aussaat sehr wirksame Toxine. Später verwendete VAILLARD schwach alkalisierte Bouillon mit etwas Peptonzusatz; KITASATO empfiehlt, sie jedesmal frisch zu bereiten. FERMI & PERNOSSI[1]) fanden, dass Agarkulturen am giftigsten sind, und diese wieder in einer Stickstoffatmosphäre.

BRIEGER & COHN[2]) fanden, dass die Giftigkeit der Kulturen erhöht werden kann, wenn man den Nährböden die Alkoholfällung alter Typhuskulturen oder von gefaultem Fleisch zusetzt. WLADIMIROFF[3]) züchtete die Bazillen in mit Wasserstoff gefüllten ERLENMEYER-Kolben, indem er nach 7 Tagen 0,5 % Karbol zusetzte. Er leitete den Wasserstoff durch Röhren ein, die durch einen doppelt durchbohrten Kautschukstopfen gingen und die er dann zuschmolz. DEBRAND[4]) giebt an, dass Tetanusbazillen in Symbiose mit Bac. subtilis sehr gut wachsen und kräftige Toxine bilden. Auch hier wieder muss man konstatieren, dass die Reichlichkeit des Wachstums nicht immer mit der Giftigkeit parallel geht.

RUPPEL & RANSOM[5]) fanden, dass bei der Entstehung von Toxin der Gefrierpunkt der Bouillon etwas herabgesetzt wird, es tritt also eine Neubildung von Molekülen ein, bei der Abschwächung soll er sich wieder etwas erhöhen.

USCHINSKY[6]) züchtete Tetanusbazillen auf einem eiweißfreien Nährboden von folgender Zusammensetzung:

Wasser	1000,0
Glycerin	30—40
NaCl	5—7
$CaCl_2$	0,1
$MgSO_4$	0,2—0,4
K_2HPO_4	2—2,5
Ammon. lactic.	6—7
Natrium asparaginic.	3,4

am besten mit Zusatz von 1—2 % Traubenzucker. Die Luft schließt er mittelst flüssigen Paraffins ab.

1) FERMI & PERNOSSI, Ueber das Tetanusgift. Z. f. Hyg., XVI, 385 (1894).

2) BRIEGER & COHN, Unters. üb. d. Tetanusgift. Z. f. Hyg., XV, 1 (1893).

3) WLADIMIROFF. Antitoxinerzeug. d. Tet.-Giftes. Z. f. Hyg., XV, 405 (1893).

4) DEBRAND, Sur un nouveau procédé de culture du bacille du tétanos. Ann. Pasteur, XIV, 757 (1900).

5) RUPPEL & RANSOM, Ueb. Molekularverhältnisse von Tetanusgiftlösungen. Z. f. phys. Ch., 27, 109 (1899).

6) USCHINSKY, Ueber eine eiweißfreie Nährlösung f. pathog. Bakt. Centralbl. f. Bakt., XIV, 316 (1893).

Die Sterilisierungsmittel sind die üblichen; besonders das Filtrieren durch Chamberland-Filter und das Erwärmen auf 60°.

Das Tetanustoxin ist gegen physikalische und chemische Einflüsse außerordentlich empfindlich. Nach Behring & Knorr[1]) verliert es beim Aufbewahren manchmal sehr schnell einen beträchtlichen Teil seiner Giftigkeit; in wenigen Tagen ist es oft schon auf den hundertsten Teil der ursprünglichen Toxizität abgeschwächt.

Besonders schädlich wirkt der Sauerstoff der Luft auf das Toxin, so dass es z. B. beim langsamen Filtrieren sehr schnell geschwächt wird, und zwar besonders in alkalischer Lösung und im Licht, das allein nicht sehr schädlich ist. Kitasato fand, dass Sonnenlicht in 15—18 St. das Gift zerstört; Fermi & Pernossi geben die Zeit von acht Stunden an, und dass es trocken oder in Benzol gegen Sonnenlicht nicht empfindlich ist.

Ein Strom von 0,5 Amp. soll es nach Fermi & Pernossi in 2 Stunden vernichten, doch sind hochgespannte Wechselströme bei Vermeidung des Erhitzens ohne jeden Einfluss (Marmier[2]).

Sehr empfindlich ist es auch gegen Erwärmen. Nach Vaillard wird es bei 65° schon zum größten Teil zerstört, ganz jedoch noch nicht einmal bei 80°. Nach Kitasato wird es bei 60° in 20 Min., bei 55° in 1½ St., bei 35—37° allmählich zerstört. Namentlich bei Zusatz von NaCl von mehr als 5% wirkt Bruttemperatur schnell schädlich. Trocken wird es bei 150° in 30 Min. zerstört, in Amylalkohol und Benzol kann man es 1 St. auf 80° erhitzen (Fermi & Pernossi). Nach Morax & Marie[3]) hält es 154° ca. 15 Min. aus. Alkohol zerstört es (Tizzoni & Cattani). 0,6% Karbol schadet nichts, auch Chloroform ist ziemlich indifferent.

Gase, wie CO_2, CO, H und H_2S fanden Fermi & Pernossi ohne Einwirkung.

Nach Roux & Vaillard[4]) wirken ferner vor allem oxydierende Substanzen, z. B. sehr verdünnte Kaliumpermanganatlösung, schädlich, sowie auch Kohlensäure unter Druck.

Auch andere Säuren sind schädlich, Weinsäure kaum, schwache Milchsäure wirkt günstig (Brieger[5]). Eine umfassende Arbeit über die Einwirkung der verschiedensten Substanzen ist die von Fermi & Pernossi (l. c.).

Auch Jodtrichlorid wirkt sehr intensiv schädigend. Sehr eigentümlich wirkt verdünnte (1:500) Jodlösung. Sie entgiftet das Toxin sehr

---

[1]) Behring & Knorr, Ueb. den Immunisierungswert des Tetanusheilserums. Z. f. Hyg., XIII, 407 (1893).

[2]) Marmier, Les toxines et l'électricité. Ann. Past., X, 469 (1896).

[3]) Morax & Marie, Action de la chaleur sêche sur la tox. tét. Ann. Past., XVI, 418 (1902).

[4]) Roux & Vaillard, Contrib. á l'étude du tétanos. Ann. Past., VII, 65 (1893).

[5]) Brieger, Weitere Erfahrungen über Bakteriengifte. Z. f. Hyg., XIX, 101 (1895).

schnell schon in geringen Mengen, lässt aber die immunisierende Eigenschaft des Toxins ungeschädigt. Ganz ähnliche Resultate erzielte EHRLICH mit Schwefelkohlenstoff. Es ist wohl unzweifelhaft, dass hier eine schnelle Zerstörung der toxophoren Gruppe unter Schonung der haptophoren Gruppe vorliegt, also eine Toxoïdbildung. Aehnlich scheint nach BRIEGER, KITASATO & WASSERMANN (l. c.) das Wachsen auf Thymusextrakt zu wirken.

Gegen Fäulnis scheint es sehr resistent zu sein; wenigstens fand SYMANSKI[1]) in gefaulten Kadavern noch nach 48 Tagen Tetanusgift. Ob das indessen echtes Tetanusgift war, ist wohl nicht über jeden Zweifel erhaben.

Konzentrierung des Toxins.

Versuche zur Isolierung des wirksamen Prinzipes aus Tetanuskulturen sind schon frühzeitig gemacht worden.

BRIEGER & FRÄNKEL stellten mit der von ihnen angegebenen Methode ein »Toxalbumin« her. VAILLARD erhielt durch Verdunsten der Giftlösung bei Zimmertemperatur im Vacuum einen braunen Rückstand, der in Alkohol unlöslich war und langsam dialysierte.

TIZZONI & CATTANI ließen entweder die Kulturen einfach eintrocknen und dialysierten dann, oder sie fällten mit Ammonsulfat, extrahierten mit Wasser und dialysierten. Sie gelangten dann durch Eindunsten im Vacuum zu festen Toxinen.

BRIEGER & COHN[2]) fällten die Kulturen zunächst mit Ammonsulfat. Der Niederschlag wurde in Wasser gelöst und mit sehr kleinen Mengen basischen Bleiacetats und Ammoniak ein Teil der Eiweißkörper abgeschieden. Von dem Bleiniederschlag wurde abfiltriert und durch Dialyse Salze, Aminosäuren und Peptone entfernt. Sie erhielten so eine etwas linksdrehende Lösung des Toxins, das keinen Schwefel enthielt und keine Eiweißreaktionen zeigte. Sie erhielten es auch auf eiweißfreien Nährböden nach USCHINSKY (s. o.).

BRIEGER[3]) fand dann später, dass sehr giftige Kulturen, die keine Albumosen mehr enthalten, das Gift nicht mehr durch Ammonsulfat ausfällen lassen. Er versuchte es, durch Ausfällen mittelst Uranacetat und Zerlegen mit Metaphosphorsäure oder Bleiacetat weiter zu reinigen und bekam Präparate, die keine Biuretreaktion mehr zeigten.

BRIEGER & BOER (l. c.) haben dann weiterhin noch Versuche zur reineren Darstellung mittelst der beim Diphtherietoxin besprochenen Zinkmethode gemacht. Oder sie fällen mit Ammonsulfat, lösen den Niederschlag und fällen mit der gleichen Menge 0,05proz. Quecksilberchloridlösung, filtrieren, waschen aus und behandeln den Niederschlag

---

[1]) SYMANSKI, Sitzungsbericht. Dtsch. med. Woch., 1901, 318 (Vereinsbeil.).
[2]) BRIEGER & COHN, Unters. üb. d. Tetanusgift. Z. f. Hyg., XV, 1 (1893).
[3]) BRIEGER, Weit. Erfahrung. üb. Bakteriengifte. Z. f. Hyg., XIX, 101 (1895).

in der angegebenen Weise mit Ammoniumkarbonat. HAYASHI[1]) hat mit einer etwas modifizierten Methode (Fällung erst mit Ammonsulfat, dann mit Zinkchlorid) Präparate erhalten, die nach seiner Ansicht keine ungiftigen Albumosen mehr enthalten. Infolgedessen hält er, da diese Präparate immer noch mit Ammonsulfat ausfallen und die Biuret- und MILLONsche Reaktion geben, das Tetanusgift selbst für eine Albumose.

Infolge der großen Giftigkeit, welche das Tetanustoxin selbst in kleinsten Dosen für einige Tierarten besitzt, ist man grade beim Tetanustoxin mit besonderem Nachdruck auf die Analogie mit den Fermenten hingedrängt worden. In der That spricht sehr vieles dafür. VAILLARD nennt es ohne weiteres ein Ferment, auch die übrigen Autoren, wie TIZZONI, BRIEGER u. s. w. neigen sich dieser Ansicht zu, die eigentlich, und mit nicht gerade kräftigen Waffen, nur von FERMI in seinen verschiedenen Arbeiten bekämpft wird. Meines Erachtens ist man berechtigt, eine weitgehende Analogie der Toxine, sowie einiger anderer Haptine mit den Fermenten anzunehmen, und ich habe dieser Anschauung mehrfach Ausdruck gegeben[2]). Das Labferment lässt sich bereits mit völliger Sicherheit den Haptinen zuzählen, und für die anderen Fermente sind nahe Beziehungen nicht von der Hand zu weisen. Es ist aber freilich nicht gerechtfertigt, nun im Tetanustoxin an sich eine fermentativ spaltende Aktion in einer der bekannten Arten zu suchen, das Tetanustoxin ist ein Ferment in der Art, aber nicht im Ziel seiner Wirkung. Es übt keine der üblichen Enzymwirkungen weder auf Stärke noch auf Rohrzucker u. s. w. aus. Neben ihm fand VAILLARD in virulenten Kulturen allerdings ein gelatineverflüssigendes Enzym. Solche proteolytischen und andere Enzyme bilden aber viele, auch nicht pathogene Mikroben.

Toxoïde und Toxone.

Die Frage nach dem Vorhandensein derartiger ungiftiger Haptine ist beim Tetanus noch kaum zielbewusst untersucht worden. Bei der so außerordentlich schnellen Abschwächung frischer Gifte scheint sich auch die haptophore Gruppe mit zu verändern; jedenfalls ist noch niemals mit Klarheit festgestellt worden, dass bei gleichbleibender Sättigungsgröße eine Verminderung der Giftwirkung eintritt. Freilich haben alle Beobachter Differenzen zwischen dem direkten Giftwerte und dem indirekten, d. h. den zur Neutralisierung einer entsprechenden Antitoxinmenge nötigen gefunden, die auf die Existenz von ungiftigen Haptinen hindeuten.

---

[1]) HAYASHI, Ueber die chemische Natur des Tetanustoxins. Arch. f. exp. Pathol., 47, 9, und Chem. Centralbl., 1901, I, 411.

[2]) OPPENHEIMER, Toxine u. Schutzstoffe. Biol. Centralbl., 1899, 799. — Ders., »Die Fermente u. ihre Wirkungen«. II. Aufl. Leipzig 1903. — Ders., Zur Theorie der Fermentprozesse. Münch. med. Woch., 1901.

Besonders BEHRING[1]) hat auf diesen Umstand hingewiesen. Er fand bei frischen Giften den direkten Giftwert gleich dem indirekten (mit $^1/_{1000}$ Antitoxineinheit gemessen); diese nannte er daher »Gleichgifte«. Bei älteren Kulturen dagegen fand er stets den direkten Giftwert geringer, d. h. es hatten sich offensichtlich Toxoïde gebildet, die bei der Absättigung das Antitoxin in Anspruch nehmen, so dass man also weniger Gifteinheiten zusetzen muss, als bei frischen nur toxinhaltigen Giften, um L_0 zu erreichen. Solche toxoïdhaltigen Gifte eignen sich, wie BEHRING angiebt, und wie leicht erklärlich, gut zum Immunisieren. Die Toxoïde scheinen für verschiedene Tiere verschiedene Toxizität zu besitzen, wenigstens verschiebt sich die Giftigkeitsskala für die einzelnen Arten sehr gegen die der Gleichgifte (s. o.).

Die Existenz von Toxonen machen Versuche von KNORR[2]) wahrscheinlich, der z. B. fand, dass bei annähernder Sättigung mit Antitoxin (also in der »Differentialzone«) eine zugesetzte Giftmenge einen wesentlich kleineren Giftwert repräsentiert, als ihr im direkten Giftwert zukäme, gerade wie beim Diphtheriegift weit mehr als eine letale Dosis nötig ist, um von L_0 zu L_+ zu führen. Er selbst scheint allerdings diese Annahme abzulehnen und deutet die Thatsache in anderer Weise.

Physiologische Wirksamkeit des Tetanustoxins.

Das Tetanospasmin ist von sehr wechselnder Giftigkeit für die verschiedenen Tierarten, besonders bei subkutaner Injektion.

Für sehr empfängliche Tiere ist seine Giftigkeit bei der üblichen subkutanen Einführung eine ganz enorme. VAILLARD erhielt eine Lösung, von der 0,001 cm³ ein Meerschweinchen tötete. Diese Dosis enthielt ca. 0,000025 g organische Substanz, also davon nur einen geringen Bruchteil reines Toxin. Für eine Maus genügen 0,000000025 g organische Substanz. Nach BRIEGER & COHN (l. c.) ist die tödliche Dosis eines durchaus noch nicht reinen Toxins für die Maus ca. 0,0000005 g, für den Menschen 0,00023 g, doch sind bisweilen noch giftigere Präparate erhalten worden. Auch sind die individuellen Schwankungen außerordentlich groß. Nach BEHRING & KNORR ist die sicher tödliche Dosis für Mäuse ca. 6mal so groß als diejenige, bei der gerade noch keine Maus stirbt. Noch viel größer aber sind die Schwankungen der Toxizität nach der Empfänglichkeit der Tierarten.

KNORR[3]) giebt in seiner Arbeit eine Skala der Empfindlichkeit gegen Tetanusgift. Nach ihm ist das empfindlichste Tier das Pferd. Nimmt man die Dosis, die 1 g Pferd tötet, als Einheit, so braucht

1) BEHRING, Ueber Tetanusgiftmodifikationen. Fortschr. d. Med., XVII, 501 (1899).

2) KNORR, Die Entstehung des Tetanus-Antitoxins. Fortschr. d. Med., 1897, 657.

3) KNORR, Das Tetanusgift und seine Beziehg. zum tier. Organismus. Münch. med. Woch., 1898, 321, 362.

1 g Meerschweinchen	2 ×
1 g Ziege	4 ×
Maus	13 ×
Kaninchen	2000 ×
Huhn	200000 ×

so viel Gift.

Behring[1]) giebt für frische Gifte, die keine Verschiebung zwischen direktem und indirektem Giftwert aufweisen (Gleichgifte), folgende Skala:

1 letale Dosis für 1 g Maus (+ Ms) tötet
12 g Pferd,
6 g Meerschwein,
0,2 g Ziege,
$^1/_{150}$ g Kaninchen,
$^1/_{1000}$ g Gans,
$^1/_{30000}$ g Huhn.

Die Zahlen stimmen also ziemlich gut überein. Bei alten Giften, wo nach Behring der direkte Giftwert (+ Ms) viel geringer ist als der indirekte (+ ms), das heißt die Menge, die nach Absättigung von $^1/_{1000}$ Antitoxineinheit noch tödlich wirkt ($^1/_{1000}$ AE = — 40000 Ms), liegen die Relativzahlen ganz unregelmäßig. Ebenso schwanken die Beziehungen zwischen der geringsten krankmachenden und der geringsten tödlichen Dosis mit der Tierart sehr stark.

Die Toxizität wird gewöhnlich erheblich erhöht, wenn man das Gift subdural resp. intercerebral einführt. So ist z. B. das sonst ziemlich refraktäre Huhn bei intercerebraler Injektion von Tetanusgift ziemlich leicht zu vergiften. Auf die wahrscheinlichen Ursachen dieser Erscheinung werden wir später zurückkommen.

Bei intravenöser Injektion sind die Erscheinungen die normalen; nur die Inkubationszeit ist etwas verlängert.

Vom Magen aus wirkt Tetanusgift so gut wie gar nicht giftig. Ransom[2]) nahm an, dass es unverändert den Darm passiert und glaubte es in den Faeces wiedergefunden zu haben; doch fand Carrière und zahlreiche andere Untersucher dort nach Eingabe großer Dosen von Toxin per os kein Toxin. Carrière[3]) prüfte infolgedessen, wo das Tetanustoxin unschädlich gemacht wird. Er fand, dass das Gift schon von der Speicheldiastase angegriffen wird, dass Pepsin weniger schädlich, Trypsin beträchtlich, Galle in größeren Mengen völlig zerstörend wirkt. Den Einfluss der Darmschleimhaut und der Darm-

[1]) Behring, Ueber Tetanusgiftmodifikationen. Fortschr. d. Med., XVII, 501 (1899).

[2]) Ransom, Das Schicksal d. Tetanusgiftes nach seiner intestinalen Einverleibung. Dtsch. med. Woch., 1898, 117.

[3]) Carrière, Toxines et digestion. Ann. Past., XIII, 435 (1899). (Dort die Litteratur über diese Frage.) (Vgl. auch d. Allg. Teil).

bakterien auf das Gift konnte er ausschließen, den FERMI & PERNOSSI als ausschlaggebend angenommen hatten. NENCKI & SCHOUMOW-SIMANOWSKI[1]) geben an, dass Verdauungssäfte es völlig entgiften, besonders Galle mit Pankreasfistelsaft, weniger Trypsin allein, Pepsin eher. VINCENZI[2]) giebt andererseits an, dass normale Galle kaum entgiftend wirkt, wohl aber Galle tetanischer Tiere, jedoch nur schwach und unter bestimmten Bedingungen; der Tod muss z. B. nach drei bis vier Tagen erfolgt sein, wenn die Galle wirksam sein soll. Dagegen wird das Gift durch die Oxydase der Leukocyten etwas geschwächt, nach SIEBER[3]) durch Milzoxydase völlig zerstört.

Es wird bei subkutaner Injektion sehr schnell resorbiert. Durch vielfache Versuche ist es erhärtet, dass eine Ratte, der man Toxin in den Schwanz injiziert hat, schon nach 2—3 Stunden nicht mehr zu retten ist, wenn man den Schwanz amputiert.

Dabei zeigt das Tetanusgift ein deutliches Inkubationsstadium. Bei Meerschweinchen treten nach COURMONT & DOYON[4]) die Erscheinungen frühestens nach 12 St. auf, bei Mäusen nach 6—8 St. Bei mittleren Dosen beträgt das Latenzstadium für Mäuse 2—3 Tage, Meerschweinchen 2 Tage, Kaninchen 2—4 Tage, Esel 4 Tage, Pferd 5 Tage. Beim Menschen schwankt es zwischen 1 Tag und 60 Tagen. Schneller geht die Wirkung bei der subduralen (BLUMENTHAL & JACOB[5]) und intercerebralen Vergiftung (ROUX & BORREL[6]), sowie der direkten Injektion ins Rückenmark (MEYER & RANSOM[7]).

Nach einer von MEYER & RANSOM gegebenen Tabelle ist die Inkubationszeit für subkutane Injektion bei

Maus	8—12	Stunden
Meerschweinchen	13—18	»
Kaninchen	18—36	»
Katze	28—70	»
Hund	36—48	»
Mensch	4	Tage
Esel	4	»
Pferd	5	»

[1]) NENCKI & SCHOUMOW-SIMANOWSKI, Ueber die Entgiftung der Toxine durch die Verdauungssäfte. C. f. Bakt., 23, 840. Vgl. DZIERZGOWSKI & SIEBER, Archiv. des sciences biol. de St. Pétersb., VIII.

[2]) VINCENZI, Ueb. antitoxische Eigenschaften der Galle tetanisierter Tiere. Dtsch. med. Woch., 1898, 534.

[3]) SIEBER, Ueb. d. Entgiftung der Toxine durch die Superoxyde u. s. w. Z. f. phys. Ch., 32, 573 (1901).

[4]) COURMONT & DOYON, s. u.

[5]) BLUMENTHAL & JACOB, Zur Serumtherapie des Tetanus. Berl. klin. Woch., 1898, 1079.

[6]) ROUX & BORREL, Tétanos cérébral. Ann. Past., XII, 1898.

[7]) MEYER & RANSOM, Unters. üb. d. Tetanus. Arch. exp. Path., 49, 369 (1903).

Sie nimmt also mit der Körpergröße zu, was mit der Langsamkeit des Gifttransportes zusammenhängt (s. u.).

Die Inkubationszeit nimmt mit der Vergrößerung der Dosis ab, doch nicht proportional und bleibt auch bei den größten Dosen bestehen. Bei Mäusen sinkt sie nie unter 8 Stunden. Sie betrug für Mäuse z. B. in einem Versuch:

Dos.	let.	13	36	Stunden
»	»	100	24	»
»	»	333	20	»
»	»	1300	14	»
»	»	3600	12	»

Das Tetanusgift wird also schnell aufgenommen, ohne dass seine Wirkung schon sichtbar wird. Trotzdem ist schon kurze Zeit nach der Vergiftung von empfänglichen Tieren im Organismus kein freies Toxin mehr aufzufinden. Es ist vielmehr zum allergrößten Teil an die Rezeptoren gebunden. Nur im Blut und in der Lymphe, in dieser weniger als im Blut, findet man nach der Injektion Toxin (RANSOM[1]), in der Lymphe am meisten etwa 1 St. nach der Injektion.

Sonst aber fehlt es in allen Organen und Sekreten (MARIE[2]). Nur BRUSSCHETTINI[3]) will es in den Nieren aufgefunden haben, durch die es ausgeschieden werden soll.

Dementsprechend haben es verschiedene Untersucher im Harn gefunden. BRUNNER[4]) fand es im Harn von Versuchstieren, nicht in dem kranker Menschen, ebenso BEHRING[5]). KARTULIS[6]) im Harn nur bei sehr großen Dosen. Im Harn tetanischer Menschen ist es allgemein vergeblich gesucht worden, nur VULPIUS[7]) fand nach dem Tode den in der Blase enthaltenen Harn so giftig, dass 2 cm^3 ein Meerschweinchen schnell vergifteten.

Bei refraktären Tieren kreist, wie wir im Allg. Teil besprochen haben, das Tetanustoxin lange Zeit in der Blutbahn, ohne von den Organen gebunden zu werden, bis es schließlich langsam verschwindet.

Neben der ausgesprochenen Verwandtschaft zum Zentralnervensystem, die das Krankheitsbild der Tetanusvergiftung völlig beherrscht, und die uns unten ausführlich beschäftigen wird, zeigt das Tetanospasmin noch

---

[1]) RANSOM, Die Lymphe nach intravenöser Inj. von T.-T. Z. f. phys. Ch., 29, 349 (1900).

[2]) MARIE, Rech. s. l. toxines tétanique. Ann. Past.. XI, 591 (1897).

[3]) BRUSSCHETTINI cit. n. BRUNNER l. c.

[4]) BRUNNER, Klin. und exp. Stud. üb. Tet. Beitr. z. klin. Chirurg., IX—XII (1892/94).

[5]) BEHRING, Die Blutserumtherapie, Leipzig, III, 1892, S. 54.

[6]) KARTULIS, Unters. über das Verhalten des Tet.-Giftes im Körper. Diss., Berlin 1892 (Dec.).

[7]) VULPIUS, Ueb. einen Fall von Wundstarrkrampf m. Tiervers. Dtsch. med. Woch., 1893, 992.

einige Allgemeinwirkungen, die wir kurz streifen wollen, da das eigentliche Krankheitsbild des Tetanus zu schildern hier nicht unsere Aufgabe sein kann.

Der Blutdruck bleibt, wie HANS MEYER & HALSEY[1]) im Gegensatz zu früheren Untersuchern fanden, unverändert, wodurch sich das Vergiftungsbild von der sonst so ähnlichen Strychninvergiftung unterscheidet. Die Tiere sterben schließlich unter starkem Absinken der Temperatur und erheblicher Inanition (HARNACK & HOCHHEIM[2]).

Beziehungen zum Zentralnervensystem.

Mit Ausnahme dieser wenig markanten Allgemeinerscheinungen verläuft der Tetanus und damit auch die völlig identische Vergiftung mit dem Tetanospasmin bei den meisten Tieren völlig unter dem Vorwiegen von Symptomen, die auf einer Affektion des Zentralnervensystems beruhen. Es scheinen also hier nur in den nervösen Organen die Rezeptoren zu finden zu sein, die das Gift verankern und so die Erkrankung herbeiführen. Nur wenige Befunde sprechen dafür, dass der nervöse Apparat doch nicht ganz ausschließlich der empfindliche Angriffspunkt des Giftes ist. So will VAILLARD mit sehr kleinen Toxindosen eine lokale Vergiftung der benachbarten Muskelgruppen erzielt haben. Eine Ausnahmestellung nimmt ferner das Kaninchen ein, bei dem das Gift unter Umständen in überwiegendem Maße anderweitig gebunden werden kann, so dass das Tier am »Tetanus sine tetano« (DÖNITZ) stirbt. Es ist dies ein besonders markanter Fall der häufiger gemachten Beobachtung, dass das Gift sich an Rezeptoren binden kann, die an wenig lebenswichtigen Organen sitzen, so dass der Giftbindung keine hervorstechende Erkrankung folgt. Wir werden auf diese Erscheinung noch zurückkommen.

Die direkten Beziehungen, die Bindung des Giftes an die Substanz des Zentralnervensystems, sind zuerst von SHAKESPEARE[3]) und VERHOOGEN & BAERT beobachtet worden, die Tiere durch subdurale Einführung der Zentralnervensubstanz tetanischer Tiere vergifteten.

BESREDKA[5]) wiederholte diesen Versuch, indem er normales Meerschweinchengehirn mit einem großen Toxinquantum längere Zeit (bis 6 Tage) im Eisschrank stehen ließ und überschüssiges freies Toxin durch

---

[1]) HANS MEYER & HALSEY, Tetanusstudien. Festschr. f. JAFFÉ, Braunschweig 1901.

[2]) HARNACK & HOCHHEIM, Ueb. Wirk. d. Briegerschen Tet.-G. Z. f. klin. Med., 25, 46 (1894).

[3]) SHAKESPEARE, Preliminary report of exper. researches concerning the infections nature of traumatic tetanus. C. f. Bakt., II, 541 (1887).

[4]) VERHOOGEN & BAERT, Premières recherches sur la nature du tétanos. Baumg. Jahresber., 1890, 198.

[5]) BESREDKA, De la fixation de la tox. tét. par le cerveau. Ann. Past., XVII, 138 (1903).

sorgfältiges Waschen entfernte. Mit diesem Brei konnte er bei Mäusen Tetanus erzeugen. Auch PASQUINI [1]) fand das Zentralnervensystem giftig.

GOLDSCHEIDER & FLATAU [2]), JOUKOWSKY [3]) u. a. haben die Wirkung des Tetanustoxins auf die Ganglienzellen, speziell der Vorderhörner, direkt unter dem Mikroskop demonstrieren können. Besonders lebhaft wurde die Frage diskutiert, ob das Nervensystem allein der Angriffspunkt des Giftes ist; und ferner, ob es nur das zentrale Nervensystem ist.

Die Frage scheint durch die Arbeiten von GUMPRECHT [4]) mit Sicherheit dahin entschieden zu sein, dass es ausschließlich das Zentralnervensystem, vor allem das Rückenmark ist, das von dem Gift angegriffen wird, und dass alle weiteren Erscheinungen auf diese primäre zurückgehen. COURMONT & DOYON [5]) nehmen allerdings an, dass das ganze sensible Neuron primär angegriffen werden kann.

Dass das Gift primär nur das Zentralnervensystem angreifen soll, ließ sich nun scheinbar schlecht vereinbaren mit der Thatsache des »lokalen Tetanus«. Sie lässt sich nur dann damit in Einklang bringen, wenn man einen direkten Transport des Giftes im Nerven von der Infektionsstelle zum Rückenmark annimmt. Diese Annahme ist zuerst von BRUSSCHETTINI [6]) gemacht worden, der das Gift im Nervensystem selbst nachweisen konnte, während andere blutfreie Organe es nicht enthalten, auch nicht die Muskeln an der Infektionsstelle.

Durch besonders umfangreiche Versuche ist diese Ansicht neuerdings von HANS MEYER & RANSOM [7]) gestützt worden. Ihre Ergebnisse sind folgende: Nach subkutaner Impfung mit Tetanusgift lässt sich das Gift im Nerven nachweisen. Dieser wichtigste Befund wurde gleichzeitig von MARIE & MORAX [8]) bestätigt, die das Gift im Ischiadicus des infizierten Beins, nach Ausbruch des allgemeinen Tetanus auch in dem anderen fanden, ferner besonders im Nerven des Masseter, dagegen aber gar nicht im N. opticus, der ja ein Gehirnanhängsel ist. Es sind motorische, sensible und sympathische Nerven nach MORAX & MARIE gleichmäßig dazu befähigt, und zwar ist nach MEYER & RANSOM ausschließlich der

---

[1]) PASQUINI. Sulla presenza del veleno tetanico negli organi. Rif. med., 1902, 22/23. Ref. C. f. Bakt., 31, 117.

[2]) GOLDSCHEIDER & FLATAU, Ueber die Ziele der modernen Nervenzellenforschung. Dtsch. med. Woch., 1898, 165.

[3]) JOUKOWSKY, De l'influence de la toxine tétan. sur le système nerveux. Ann. Past., XIV, 464 (1900).

[4]) GUMPRECHT, Zur Pathog. d. Tetanus. Dtsch. med. Woch., 1894, 546. — Ders., Vers. über d. physiol., Wirk. des Tetanusgiftes. Pflügers Arch., 59, 105 (1895) (Litteratur).

[5]) COURMONT & DOYON, Le Tétanos. Paris, Baillière, 1899.

[6]) BRUSSCHETTINI, Rif. med., 1892. Cit. n. BRUNNER.

[7]) HANS MEYER & RANSOM, Unters. üb. d. Tetanus, Arch. exp. Path., 49, 369 (1903).

[8]) MARIE & MORAX, Rech. sur l'absorption de la tox. tét. Ann. Past., XVI, 818 (1902), XVII, 335 (1903).

normale Achsencylinder der Träger des Giftes, das nur durch die Muskelendapparate, nicht durch die Blutbahn in ihn hineingelangt. Das Gift wandert nur centripetal. MEYER & RANSOM fanden ferner, dass außer Durchschneidung des Nerven auch Injektion von Antitoxin in den Nerven dem Gifte den Weg zum Rückenmark sperrt. Dies gelingt sicher bei lokaler (subkutaner), manchmal auch bei intravenöser Vergiftung. Die zu dem geschützten Nerven gehörigen Zentren bleiben frei, während das Tier dem allgemeinen Tetanus erliegt. Auch im Rückenmark selbst lässt sich durch Durchschneiden das Weiterwandern des Giftes ausschalten. Bei solchen Tieren erfolgte keine Vergiftung des Gehirns; die Tiere lagen bis 3 Wochen im dauernden Tetanus und gingen schließlich anscheinend an Erschöpfung zu Grunde. Der Transport direkt durch die Nerven wird auch dadurch plausibler, dass das Gift bei direkter Injektion in die Nerven erheblich (ca. 10mal) intensiver wirkt. Dabei wurden die Giftmengen, die etwa bei der Injektion nebenher in die Lymphdrüsen und die Blutbahn gelangen, jedesmal durch große Antitoxinmengen ausgeschaltet. Die Inkubationszeit ist erheblich abgekürzt und wird bei direkter Injektion in das Lumbalmark auf wenige Stunden reduziert, wie dies schon aus den Versuchen von ROUX & BORREL[1]) über den Kopftetanus bekannt ist. Der langsame Transport durch die Nerven erklärt die verschieden lange Inkubationszeit (s. o.).

Es folgt aus diesen Versuchen, dass das Gift zuerst ausschließlich durch die Nerven selbst zu den Rückenmarkszentren geführt wird, und von diesen aus die spezifischen Erscheinungen ausgelöst werden. Ergreift das Gift ausschließlich die sensiblen Zentren, so entsteht ein reiner Tetanus dolorosus ohne Krämpfe. Auch aus dieser strengen Scheidung folgt, dass das Gift nicht durch Blut oder Lymphbahnen an das Rückenmark gelangt. Das Gift gelangt normalerweise nur durch das motorische Neuron an die motorischen Ganglien und erzeugt hier einen Zustand der Uebererregbarkeit gegen die gewöhnlich latent bleibenden Reize, die von den sensiblen Neuronen ausgehen. Näher auf die Theorie des Tetanus selbst einzugehen, ist hier nicht der Ort.

Der gewöhnliche Angriffspunkt des Tetanusgiftes und damit der Erkrankung ist also das Rückenmark.

Aber ganz ausschließlich ist es nicht das Rückenmark, das dem Tetanustoxin passende haptophore Gruppen darbietet. ROUX & BORREL[1]) konnten z. B. nachweisen, dass bei subduraler Einführung in die Schädeldecke das Gift sich ausschließlich an die Gehirnzellen bindet und einen cerebralen Tetanus erzeugt. Und schließlich deuten Versuche von DÖNITZ[2]) am Kaninchen und MIYAMOTO[3]) darauf hin, dass das

[1]) ROUX & BORREL, Tétanos cérebral. Ann. Past., XII, 225 (1898).
[2]) DÖNITZ, Ueber das Tetanusantitoxin. Dtsch. med. Woch., 1897, 428.
[3]) MIYAMOTO, Beiträge zur Tetanusvergiftung. Dtsch. med. Woch., 1900, 479.

Toxin unter Umständen von anderen haptophoren, nicht dem Zentralnervensystem angehörigen Gruppen so schnell gebunden werden kann, dass das Tier ohne Krämpfe an einem »Tetanus sine tetano« zu Grunde geht. Beim Kaninchen beruht auf dieser Bindung des Giftes an weniger lebenswichtige Organe, die es vom Zentralnervensystem ableiten, sicher zum Teil seine geringere Empfindlichkeit. Bei intercerebraler Injektion wenigstens, wo also das Gift direkt mit dem Zentralnervensystem in Berührung kommt, konnten Roux & Borrel Kaninchen sehr viel leichter vergiften, als bei subkutaner, was bei Meerschweinchen nicht der Fall ist. Auch das sonst so wenig empfängliche Huhn lässt sich durch intercerebrale Injektion vergiften. Unter noch nicht näher bekannten Umständen scheinen danach manche Gifte (Miyamoto verwendete ein sehr altes Gift) die vorwiegende Affinität zum Zentralnervensystem zu verlieren. Man geht wohl nicht fehl, wenn man vorläufig annimmt, dass sich hier Stoffe aus dem ursprünglichen Toxin gebildet haben, die zwar noch giftig sind, aber ihre eigenartige toxische Wirkung auf das Zentralnervensystem verloren haben, vielleicht eine Toxoïdbildung in eigenartigem Sinne. Bei refraktären Tieren, z. B. Alligatoren, aber auch den nicht völlig refraktären Hühnern, fand andererseits Metschnikoff (s. u.) eine geringfügige Antitoxinbildung ohne vorhergegangene Krankheitserscheinungen, die wohl auch durch eine Bindung an zerstreute einzelne Rezeptoren zu deuten ist.

Den aus dem Studium der Krankheitserscheinungen gezogenen Schluss, dass die Substanz des Zentralnervensystems das Tetanusgift bindet, konnte man auch experimentell bestätigen.

Fast gleichzeitig zeigten Wassermann & Takaki[1]), sowie Ransom[2]), dass eine Emulsion aus frischem Meerschweinchengehirn eine gewisse Quantität Tetanustoxin binden und entgiften kann. Freilich ist die Bindungsfähigkeit nicht sehr bedeutend; nach Paltauf[3]) kann 1 cm^3 Emulsion höchstens 100 letale Dosen binden, ein Punkt, den man nicht aus dem Auge lassen darf, wenn man die Diskussion über diese Frage richtig beurteilen will.

Dass es die Zellen des Gehirnes sind, die binden, zeigten Blumenthal[4]) und Milchner[5]), die fanden, dass nach dem Abcentrifugieren die Flüssigkeit frei von Toxin ist.

---

1) Wassermann & Takaki, Ueber tetanusantitoxische Eigenschaften des Centralnervensystems. Berl. klin. Woch., 1898, S. 5. — Wassermann, Weitere Mitt. über Seitenkettenimmunität. Ebd., 209.

2) Ransom, cit. n. Behring, D. med. Woch., 1898, 68.

3) Paltauf, Diskussion zu dem Vortrag von Gruber. Wien. klin. Woch., 1901, 51.

4) Blumenthal, Ueber die Veränderungen des Tetanusgiftes im Tierkörper. Dtsch. med. Woch., 1898, 185.

5) Milchner, Nachweis der chemischen Bindung von T.-G. durch Nervensubstanz. Berl. klin. Woch., 1898, 369.

Auch RANSOM[1]) konnte zeigen, dass bei Injektion von Tetanusgift in den subarachnoïdalen Raum die Nervensubstanz mehr Gift bindet, als dem in ihr enthaltenen Blute zugeschrieben werden kann, dass es aber nicht restlos gebunden wird, sondern ein Teil auch bei diesem Einführungswege in die Blutbahn gelangt. Die Cerebrospinalflüssigkeit dagegen fand MEYER wie vor ihm BLUMENTHAL & JACOB[2]) und SCHULTZE[3]) frei von Toxin.

WASSERMANN fasste diese Ergebnisse des Versuchs als eine experimentelle Bestätigung der Seitenkettentheorie auf. Dieselben Rezeptoren, die im Gehirnbrei und auch im lebendem Gehirn das Gift zu binden imstande sind, sind es auch, die als freie Rezeptoren im Blute kreisen, so dass WASSERMANN mit Recht den Begriff der Seitenkettenimmunität aus diesen Versuchen herleitete.

Gegen die Deutung seiner Versuche sind nun von verschiedenen Seiten, besonders der METSCHNIKOFFschen Schule[4]) und von BEHRING & KITASHIMA[5]), Einwände erhoben worden. Auf die ganze Streitfrage hier einzugehen, würde uns zu weit von unserem Thema abführen; ich begnüge mich damit, auf die Arbeit von MARX[6]) hinzuweisen, der die ganze Frage nochmal aufgerollt hat.

MARX fand bei mehr als 200 Versuchen an Mäusen, dass die antitoxische Wirkung des Gehirnes so ist, dass sie durch Zusatz von Serum einfach ergänzt wird, dass nicht, wie KITASHIMA (l. c.) bei Anwendung sehr großer Giftmengen gefunden hatte, die Gehirnwirkung die Antitoxinwirkung stört.

MARX bestätigt also WASSERMANNS Ansicht, dass die gebundenen Rezeptoren des Gehirnes qualitativ und quantitativ analog wirken wie die freien Rezeptoren, die im Antitoxinserum enthalten sind.

Damit ist die EHRLICHsche Anschauung, dass das Gift sich nur an passende Rezeptoren binden kann, und dass diese Rezeptoren, wenn losgerissen, giftneutralisierend, im Verband der lebenden Zellen aber giftzuführend wirken, aufs neue gestützt.

Unverständlich ist der anfangs gegen diese Versuche gemachte Ein-

---

[1]) RANSOM, Die Injektion von Tetanustoxin bezw. Antitoxin in den subarachnoidalen Raum. Z. f. phys. Ch., 31, 282, 1900/01.

[2]) BLUMENTHAL & JACOB, Zur Serumtherapie des Tetanus. Berl. klin. Woch., 1898, 1079.

[3]) SCHULTZE, Spinalpunktion u. Einspritz. v. Antitoxinserum bei Tet. traumaticus. Mitt. Grenzgeb. d. Med. u. Chir., V, 169 (1900).

[4]) METSCHNIKOFF, Immunität. Deutsch v. MEYER. Jena 1902. — Ferner speziell: METSCHNIKOFF, Influence de l'organisme sur les toxines. Ann. Past., XI, 801; XII, 81 (1897—98). — MARIE, Proprieté antitétanique des centres nerveux. Ibid., XII, 91 (1898). — BESREDKA, De la fixation de la toxine tet. Ibid., XVII, 139 (1903).

[5]) BEHRING, Allg. Ther. d. Infekt.-Kr., I, 1033.

[6]) MARX, Die Tet.-G. neutralis. Eigensch. d. Gehirns. Z. f. Hyg., 40, 231 (1902).

wand, dass das Gehirn wenig empfänglicher Tiere, wie Hühner u. s. w., nicht schützt, denn selbstverständlich für den, der auf dem Boden der EHRLICHschen Theorie steht, kann nur diejenige Nervensubstanz schützen, die das Tetanustoxin wirklich bindet, die eben ihm adäquate haptophore Gruppen besitzt. Und solche haptophoren Gruppen weisen natürlich nur die Gehirne u. s. w. derjenigen Tiere auf, die eben gegen Tetanus nicht refraktär, nicht natürlich immun sind. Es ist doch eine der schönsten Konsequenzen der EHRLICHschen Theorie, dass sie das einst so schwierige Problem der natürlichen Immunität mit einem Schlage in das hellste Licht rückt. Sowohl die Infektion, als auch die relative Bildung von Antikörpern kann nur da stattfinden, wo haptophore Gruppen sich gegenseitig binden. Wo diese fehlen, bleiben sowohl Infektion als auch Neutralisierung des Giftes völlig aus.

Freilich ist das Zentralnervensystem durchaus nicht notwendigerweise der einzige Produktionsort des Antitoxins. Wie wir oben erwähnt haben, finden sich giftbindende Rezeptoren auch an anderen Stellen, wo die Giftbindung gar keine schädlichen Folgen hat, z. B. im Bindegewebe u. s. w. Wo aber Rezeptoren vorhanden sind, kann auch Antitoxinbildung auftreten. Die Antitoxinbildung, eine Funktion der haptophoren Gruppe, hat mit der Giftwirkung an sich gar nichts zu thun. So muss nach EHRLICH-WASSERMANN zwar das Zentralnervensystem schützend wirken, aber nicht, weil es der toxophoren Gruppe als Angriffspunkt dient, sondern weil es Rezeptoren enthält, die auch anderen Geweben zukommen können.

Gegen diese Ansicht erhob METSCHNIKOFF den Einwand, dass auch das Gehirn der Frösche gar nicht schützt. Frösche sind zwar in der Kälte absolut unempfindlich gegen Tetanus, bei über 20° dagegen außerordentlich empfindlich, wie das in geringerem Maße von anderen Amphibien und Reptilien gilt, sowie auch von Murmeltieren (BILLINGER[1]), die im Winterschlaf, also bei niederer Temperatur, nicht sterben, sondern erst nach dem Erwachen. Auch Fledermäuse zeigen in der Kälte, solange sie schlafen, eine erhebliche Resistenz (MEYER & HALSEY l. c.). Das Gehirn der Frösche zeigt nun keinerlei bindende oder schützende Wirkung gegenüber dem Tetanustoxin, und ebenso tritt im Körper der Frösche bei Tetanusvergiftung nie ein Antitoxin auf. So zweifellos richtig diese Thatsache ist und so wenig das Ausfallen der Abstoßung und Freibewegung der haptophoren Gruppen bis jetzt erklärt ist, so ist doch die Auslegung, die METSCHNIKOFF dieser Erscheinung giebt, dass nämlich das Zentralnervensystem des Frosches das Tetanustoxin überhaupt nicht binde, sicher nicht richtig. In einer sehr interessanten Arbeit konnte MORGENROTH[2]) nachweisen, dass das Tetanusgift sich auch in

---

[1]) BILLINGER, Winterschlaf und Infektion. Wien. klin. Woch., 1896, 769.

[2]) MORGENROTH, Zur Kenntnis des Tetanus des Frosches. Arch. internat. d. Pharmacodynamie, VIII (1900), 255, S. A.

der Kälte, zwar langsamer, aber doch sicher an das Zentralnervensystem des Frosches bindet, dass aber die toxophore Gruppe unwirksam ist. Diese tritt sofort in Funktion, wenn man die Temperatur erhöht.

Die Bindung des Toxins an das Nervensystem geschieht bei Einführung in die Blutbahn sehr schnell. DECROLY & RONSSE[1]) zeigten, dass bei Kaninchen nach intravenöser Injektion einer tödlichen Dosis Tetanusgift das Blut schon nach einer Minute ungiftig ist. So schnell verschwindet das Toxin aus dem Blute[2]). Aus dieser außerordentlich großen Verwandtschaft des Giftes zum Nervensystem folgen nun praktisch sehr wichtige Konsequenzen. So leicht es ist, das Tetanusgift, bevor es in die Nervenbahnen eintritt, durch Antikörper unschädlich zu machen, so viel schwerer gelingt es, die einmal vorhandene Bindung zu zerreißen, das Toxin vom Receptor loszumachen, den Tetanus zu heilen. Mit jeder Stunde wird die Bindung des Toxins fester und die Wirksamkeit des Serums geringer. Wie schnell diese Beeinträchtigung eintritt, hat DÖNITZ[3]) gezeigt. Dieselbe Antitoxinmenge, die bei gleichzeitiger Injektion ein Kaninchen vor einer vielfach letalen Dosis schützte, versagte völlig, wenn sie vier Minuten nach dem Toxin eingespritzt wurde (beides bei intravenöser Injektion). Nach einer Stunde war schon die 40fache Antitoxinmenge nötig. Nach Ablauf von 5 Stunden versagten selbst kolossale Dosen, z. B. das 600fache der einfach wirkenden Dosis. Ganz ähnlich, nur langsamer verschiebt sich diese Wirkung des Serums zu seinen Ungunsten nach MORGENROTH beim Frosche. Bei den Heilversuchen am Menschen hat es sich vielfach gezeigt, dass nach Ausbruch der tetanischen Symptome, also nach Ablauf der Inkubationszeit, selbst kolossale Dosen Immunserum meist nichts mehr nützen.

Ich bin auf diese Frage, deren genauere Ausführung nicht an diese Stelle gehört, nur deswegen eingegangen, weil man aus diesen Thatsachen, und zugleich aus dem Vorhandensein einer mehr minder langen Inkubationszeit (s. o.), Schlüsse über die Veränderungen des Tetanusgiftes selbst im menschlichen Organismus ziehen wollte.

Einige Autoren haben nämlich angenommen (z. B. COURMONT & DOYON[4]),

---

[1]) DECROLY & RONSSE, Pouvoir toxique et antitoxique du sang etc. Arch. internat. de pharmacodyn., VI, 211 (1899).

[2]) Allerdings nimmt DÖNITZ (s. o.) an, dass beim Kaninchen auch in anderen Organen Rezeptoren vorhanden sind, um das außerordentlich schnelle Verschwinden zu erklären; bei Meerschweinschen und Maus kreist es länger im Blute. Auf die Wichtigkeit solcher zerstreuter Rezeptoren habe ich schon mehrfach hinzuweisen Gelegenheit gehabt.

[3]) DÖNITZ, Ueber das Tetanusantitoxin. Dtsch. med. Woch., 1897, 428.

[4]) COURMONT & DOYON, u. a., a) Mecanisme de production des contractures du tétanos. Arch. de phys., 1893, 64. — b) La substance toxique qui engendre le tétanos. Sem. méd., 1893, 122. — c) Du tét. de la grenouille. Ibid., 1893, 302. — d) De la prod. d. t. chez la poule. Ibid., 1893, 486. S. a. d. bereits citierten Arbeiten, sowie ihr Werk: Le Tétanos, Paris 1899. (Andere Arbeiten s. bei BLUMENTHAL l. c.)

dass das Gift, das schließlich den Ausbruch des Tetanus herbeiführt, nicht das primäre Toxin der Kulturen ist. Dieses soll nur als ein Ferment wirken, das unter den geeigneten Bedingungen aus dem Protoplasma der angegriffenen Zelle das eigentliche Krampfgift abspaltet, das nun ohne Inkubationszeit vergiftet. Die Gründe, die die Autoren für diese Anschauung ins Feld führen, sind folgende:

Was zunächst die Inkubationszeit betrifft, so wird angenommen, dass während dieser Zeit das eigentliche Gift erst entsteht und dann erst wirkt. Nötig ist hierfür diese komplizierte Anschauung nicht, denn durch eine langsame Wirkung der toxophoren Gruppe und die verschieden lange Wanderung in der Nervenbahn nach Meyer & Ransom (s. o.) ist sie mindestens ebenso einleuchtend erklärt. Auch spricht nicht dafür, dass die Inkubationszeit um so kürzer wird, je mehr Toxin dem Tiere zugeführt wird, wenn auch, wie bei jedem Toxin, diese Verkürzung der Inkubationszeit durch größere Dosen ihre Grenze hat.

Auch das komplizierte Verhalten der Inkubationszeit beim Frosch, das man speziell als Grund für diese Annahme ins Feld geführt hat, ist einfacher zu erklären. Morgenroth konnte zeigen, dass durch Erwärmen zunächst nur eine sehr schnelle und feste Bindung des Toxins herbeigeführt wird, keine Giftwirkung. Denn bringt man den Frosch nach 24 Stunden Verweilens bei 32° wieder in den Eisschrank, so bleibt er dauernd gesund, stirbt aber nach einer um 24 Stunden gekürzten Inkubationszeit trotz Anwendung kolossaler Antitoxinmengen, wenn man ihn nun wieder auf 32° bringt. Würde durch die Erwärmung, wie Courmont & Doyon annahmen, eine sekundäre Veränderung des Giftes eintreten, so dürfte der Frosch auch im Eisschrank nicht dauernd gesund bleiben. Die Wärme hat hier nur eine außerordentlich feste Bindung herbeigeführt, die erst bei neuer Erwärmung durch Einwirkung der toxophoren Gruppe zum Tode führt. Dass nach eingetretener Bindung das Antitoxin mehr oder minder völlig versagt, eine Thatsache, die besonders für die Theorie des sekundären Giftes ausgebeutet worden ist, giebt ihr meines Erachtens gar keine Waffe. Die Ueberlegenheit des im Blute kreisenden Antitoxins dem Toxin gegenüber, die es verhütet, dass es sich an das Zentralnervensystem bindet, beruht nur darauf, dass es eben im Blute kreist, das Toxin also sofort beim Eintritt in die Blutbahn auffängt und mechanisch von den bedrohten Geweben abhält, nicht aber etwa in einer größeren Affinität dem Toxin gegenüber. Es ist nur wenig imstande, und nur bei Massenwirkung wenn sehr viel Antitoxin angewendet wird, die einmal geschaffene Bindung Nervenzelle—Toxin zu zerreißen. Es ist also ohne weiteres klar, dass das Antitoxin eine Zeitlang nach der Vergiftung, um wie viel mehr erst nach dem Ausbrechen der Symptome, unwirksam sein muss, und wir brauchen dazu durchaus nicht die Annahme der Existenz eines neuen, dem Antitoxin nicht verwandten Giftes anzunehmen. Eben-

sowenig kann es dafür von Bedeutung sein, dass auch das Gehirn von Tieren, die am Tetanus gestorben sind, noch Gift bindet.

Wenn aber diese Ausführungen die Frage nach der Nichtbeeinflussung des Toxins durch das Antitoxin nach einer gewissen Zeit noch nicht durchaus erklären, so giebt der Nachweis von MEYER & RANSOM (l. c.), dass das Tetanusantitoxin dem Gift auf seinem Wege in die Nervenbahn nicht folgen kann, eine restlose Aufklärung dieser Verhältnisse. Damit ist die Wirkungslosigkeit des Antitoxins völlig erklärt, und man braucht nicht mehr die Hilfshypothese eines sekundären Giftes zu machen.

Indessen ist es damit auch noch nicht definitiv widerlegt.

Einen experimentellen Beweis versuchten COURMONT & DOYON dadurch, dass sie zeigten, dass die Transfusion des Blutes von einem tetanischen Hund bei einem anderen sofort tetanusähnliche Symptome auslöste. Auch KRAUS[1]) konnte Mäuse mit dem Blutserum einer tetanischen rapide vergiften, wie vor ihm NISSEN[2]). Hier sollte also das sekundäre Gift wirksam sein. Dies wollte man nun mehrfach in Organen gefunden haben.

BLUMENTHAL[3]) stellte aus den Organen von am Tetanus gestorbenen Tiere ein Gift dar, das ohne Inkubationszeit in einer Dosis von 0,35 cm^3 in 17 Min. unter Krämpfen tötete und demgegenüber das Antitoxin wirkungslos war. Auch BUSCHKE & OERGEL[4]) haben aus Leber, Milz und Rückenmark eines Tetanischen ein augenblicklich wirksames Krampfgift darstellen können, ebenso TAUBER[5]) aus Rückenmark, Gehirn und Leber in geringer Menge. Solchen Befunden von Giften aus Leichenorganen gegenüber muss man sehr skeptisch sein; man kann absolut nicht wissen, was man da eigentlich herausextrahiert, und was für giftige Stoffe sich während des Krankheitsprozesses mit seinen Veränderungen im Protoplasma gebildet haben können, die mit dem Tetanustoxin überhaupt nichts zu thun haben, und gegen die das Antitoxin machtlos ist. Auch BLUMENTHAL selbst, sowie in neuerer Zeit COURMONT & DOYON deuten jetzt diese Befunde sehr vorsichtig und lassen es dahingestellt, wie weit dieses Organgift mit dem wirklichen Tetanusgift zusammenhängt. BLUMENTHAL hält es für eine Verbindung des eigentlichen Giftes mit Zellsubstanz. Ein Beweis lässt sich jedoch mit solchen Mitteln nicht führen. Um es zu rekapitulieren, die COUR-

---

[1]) KRAUS, Beitrag zur Klinik des Tetanus. Z. f. klin. Med., 37, 247 (1899).

[2]) NISSEN, Ueb. den Nachweis von Toxin im Blute u. s. w. D. med. Woch. 1891, 775.

[3]) BLUMENTHAL, Weit. Beitr. z. Kenntn. des Tet.-G. Z. f. klin. Med., 32, 325 (1897). — Ders., Ueber die Veränderungen des Tetanusgiftes im Tierkörper. Dtsch. med. Woch., 1898, 185.

[4]) BUSCHKE & OERGEL, Beitrag zur Kenntnis des Tetanus. D. med. Woch., 1893, 149.

[5]) TAUBER, Ein Beitr. z. Kenntnis d. Tetanus. Wien. klin. Woch., 1898, 747.

MONTsche Fermenttheorie des Tetanustoxins ist bisher nicht erwiesen, und sie ist bisher zu entbehren. Ob sie nicht trotzdem richtig ist, ist bis jetzt nicht zu entscheiden. Aber man thut gut, dieses so eminent schwierige Gebiet nicht noch durch Hypothesen zu verdunkeln, solange man nicht sicherere Stützen dafür hat.

Das Tetanusantitoxin.

Das Antitoxin des Tetanus verhält sich zu dem Toxin im wesentlichen ganz analog wie das der Diphtherie, d. h. seine antitoxische Kraft lässt sich nach genauen zahlenmäßigen Verhältnissen zum Toxin feststellen. Beide binden einander und eine spätere Trennung ist nicht mehr möglich. Jedoch tritt die Bindung nicht so schnell ein, so dass man nach DÖNITZ[1]) $^3/_4$ Stunden bei der Prüfung warten soll; außerdem ist der Grad der Absättigung abhängig von der Konzentration: bei größerer ist die Bindung schneller und vollkommener. so dass man stets möglichst gleiche Konzentrationen vergleichen muss. Für die quantitativen Verhältnisse gelten annähernd dieselben Beziehungen wie bei der Diphtherie. Jedoch ist die Aufklärung hier nicht so weit vorgeschritten, was insbesondere der außerordentlichen Labilität des Toxins zuzuschreiben ist. Die Bindung scheint ferner eine sehr viel weniger feste zu sein und eher zu Gleichgewichtszuständen zu führen (über diese s. im Allg. Teil). Das Serum lässt sich unter Zusatz von 1 % Chloroform oder 0,6 % Karbol im Dunkeln und kühl lange aufbewahren. Es verträgt auch einen Zusatz von 1 % Karbol. Alkohol und destilliertes Wasser sind unschädlich (BEHRING[2]).

ROUX & VAILLARD (l. c.) ließen Kuhserum im Vacuum ohne Verlust trocknen und lösten es zum Gebrauch in der sechsfachen Menge Wasser.

Auch die Milch immunisierter Tiere enthält das Antitoxin. Nach BRIEGER & COHN[3]) kann es daraus in folgender Weise konzentriert werden.

Man fällt die Milch analog wie bei der Gewinnung des Diphtherieantitoxins durch Labferment. Die filtrierte Molke wird durch Chloroform geschüttelt, absitzen gelassen und dekantiert. Dann fällt man durch Sättigung auf 32 % Ammonsulfat. Der Niederschlag wird wieder aufgelöst, mit basischem Bleiacetat in geringer Menge gefällt, und mit ganz schwach alkalischem Wasser ausgewaschen. Filtrat und Waschwasser werden mit Ammonsulfat gesättigt. Der Niederschlag wird von dem überschüssigen festen Ammonsulfat durch Aufschlemmen in reinem Chloroform mechanisch getrennt. Die Salze setzen

---

[1]) DÖNITZ, Bericht üb. d. Thätigkeit des Kgl. Instituts f. Serumforsch. u.s.w. S. A. aus dem »Klin. Jahrb.«, VII, 1899.

[2]) BEHRING, Die Blutserumtherapie. III. Leipzig 1892.

[3]) BRIEGER & COHN, Beitr. z. Concentr. d. geg. Wundstarrkrampf schützenden Substanz. Z. f. Hyg., XV, 439 (1893).

sich ab, der leichte Antikörperniederschlag schwimmt oben und wird abgehoben. Es ließ sich so eine Konzentrierung auf das 300—400fache der ursprünglichen in der Milch erreichen. Noch weiter lässt sich das Antitoxin reinigen, wenn man das entbleite Filtrat nicht mit Ammonsulfat, sondern erst mit NaCl, dann mit phosphorsaurem Natrium fällt. Während der Kochsalzniederschlag fast nichts von dem Antitoxin mitfällt, wird es von dem Natriumphosphat zum größten Teile mitgerissen.

Mit den Eigenschaften des Antitoxins hat man sich natürlich viel beschäftigt. Es unterscheidet sich nicht wesentlich von dem Diphtherieantitoxin.

Bei 68° wird es zerstört, aber selbst bei 80° nicht völlig. Ebenso wirken Säuren (Salzsäure bei 1 : 15 Antitoxin, Milchsäure) zerstörend.

Ganz schwache Alkalien sind unschädlich, stärkere zerstören es schnell.

Es widersteht der Fäulnis (Behring).

Es dialysiert nicht und wird zum Teil in Chamberland-Kerzen zurückgehalten. Tizzoni & Cattani[1]) schreiben ihm Fermentnatur zu, wozu meiner Meinung nach gar keine Veranlassung vorliegt (s. b. Diphtherie). Sie schließen dies daraus, dass es durch Alkohol fällbar ist und sich, allerdings sehr langsam, aus den Niederschlägen mit Glycerin extrahieren lässt. Es wird wohl auch ein den Globulinen nahestehender Körper sein, wie das Diphtherieantitoxin.

Dass es durch Magnesiumsulfat ausfällt, fanden Tizzoni & Cattani bereits. Sie machten auch schon die Beobachtung, dass die Globuline, die durch schwache Säuren (Essigsäure, Kohlensäure) ausgefällt werden, oder die man durch Dialyse erhält, das Antitoxin nicht mitführen, sondern nur die durch festes Magnesiumsulfat bei 30° gefällten Globuline.

Pick (l. c.) konnte mit Hilfe seiner feineren Methoden diese Angaben bestätigen. Danach ist das Tetanusantitoxin genau so verteilt wie das Diphtherieantitoxin; er fand es im Pferdeserum ebenfalls ausschließlich an das Pseudoglobulin gebunden.

Die Berechnung des Wertes des Tetanusantitoxins geschah nach Behring folgendermaßen: Ein »einfaches« Serum soll 1 g Tier gegen die sichere Dosis letalis schützen. So schützt ein cm^3 Serum von 1 : 1 Million 50000 Mäuse von je 20 g, also eine Maus braucht $^1/_{50000}$ cm^3 oder 0,00002 cm^3, ein Schaf von 50 kg also 0,05 cm^3, ein Pferd von 400 kg also 0,4 cm^3[2]).

---

1) Tizzoni & Cattani, Sur les proprietés de l'antitoxine du tétanos. Arch. ital. de biolog., XVI, 394 (1891). (Ref.) — Ueber d. Eigenschaften des Tetanus-Antitoxins. C. f. Bakt., IX, 685 (1891). — Fernere Unters. üb. das Tetanus-Antitoxin. Ebd., X, 33 (1891). — Tizzoni, Ueb. d. experim. Immunität gegen Tetanus. Festschrift für Virchow. Berlin 1892, III, 29.

2) Die Zahlen, die Behring (Die Blutserumtherapie, II, S. 20) giebt, stimmen nicht genau. Wenn ein cm^3 50000 Mäuse schützt, so braucht eine Maus nicht 0,00005, sondern 0,00002 cm^3, ebenso ein Pferd von 400 kg nicht 0,25, sondern 0,4 cm^3.

Neuerdings aber wird im Kgl. Institut für Serumforschung und Serumprüfung das Serum genau so geprüft wie das Diphtherieserum. An einem unveränderlich aufbewahrten Testserum werden Testgifte eingestellt und an diesen die zu prüfenden Sera gemessen.

Sehr wichtig für die Beurteilung der Wirkung des Antitoxins im Organismus ist die Feststellung von HANS MEYER & RANSOM (l. c.), dass das Antitoxin im Gegensatz zum Toxin nicht imstande ist, in den Achsencylinder einzudringen. Infolgedessen ist das Antitoxin gegenüber dem einmal in den Nerven befindlichen Gift völlig machtlos. Auch in die Zentren selbst mit Hilfe der Lymph- und Blutbahn kann es nicht eindringen. So kann es nur die überschüssigen Giftmengen der Gewebe neutralisieren. Auch hoch immunisierte Tiere erliegen deshalb der Vergiftung, wenn das Gift direkt in die Nerven gebracht wird. MEYER & RANSOM hoffen, durch direkte Injektion von Antitoxin in die Nerven Heilerfolge erzielen zu können.

Das Botulismustoxin.

Ein drittes echtes Toxin ist das wirksame Prinzip vieler Fälle von Fleischvergiftung,

Auf die bis dahin ziemliche rätselhafte Aetiologie des Botulismus warf die Entdeckung VAN ERMENGEMS[1]) ein helles Licht, der aus einem giftigen Schinken einen saprophytischen Bacillus botulinus isolierte, den schon er selbst als den Erzeuger eines spezifischen, ungemein wirksamen Toxins erkannte. Nach KEMPNER ist er auch in den Schweinefaeces aufzufinden und SCHNEIDEMÜHL[2]) hält ihn auch für den Erreger der sog. Geburtsparalyse bei Rindern. Zwar hatte man schon früher aus giftigen Fleischproben Stoffe isoliert und als Träger der Vergiftung angesprochen, so das von v. ANREP[3]) aus Störfleisch gewonnene, doch erst das Botulismustoxin erwies sich als das spezifische Gift der Fleischvergiftung und als ein echtes Toxin.

VAN ERMENGEM erhielt es durch Filtration der Kulturen seines Bacillus botulinus. Es ist ungemein giftig. Für den Menschen stellen 0,035 mg die tödliche Dosis dar. Schon dadurch reiht es sich den wirklichen Toxinen an. Ebenso ferner durch die Spezifizität seiner Wirkung, die völlig dem Krankheitsbilde des Botulismus entspricht.

Es erzeugt dieselben Augensymptome, Aphonie, Obstipation, Urinretention. Fieber tritt nicht ein. Schließlich führt es unter Erscheinungen, die der Bulbärparalyse ähnlich sind, zum Tode.

[1]) VAN ERMENGEM, Ueber einen neuen anaëroben Bacillus u. s. Bezieh. zum Botulismus. Z. f. Hyg., 26, 1 (1897).

[2]) SCHNEIDEMÜHL, Ueb. Botulismus beim Menschen und die sog. Geburtsparalyse bei Rindern. C. f. Bakt., 24, 619 (1898).

[3]) v. ANREP, Intoxication par les ptomaines. Arch. slaves de biol., 1886, I, 341, cit. n. v. ERMENGEM l. c.

Seine Wirkung tritt erst nach einer gewissen Inkubationszeit ein.

Nach FORSSMAN[1]) ist die Art der Einführung nicht gleichgiltig; zwar tritt bei intracerebraler Einführung keine eigene Erkrankungsform und Intensität auf, verglichen mit der subkutanen, wohl aber bei intraperitonealer und vor allem intrapulmonaler Injektion. Dann ist das Vergiftungsbild durch heftige Dyspnöe beherrscht. Auch ist bei intrapleuraler Injektion das Gift 5—9mal giftiger, die Inkubationszeit bei der einfachen Dos. let. jedoch länger. Andererseits ist aber die Minimalinkubation (bei massiven Dosen) bei subkutaner Injektion 6 St., bei intrapulmonaler 4 St.

Wie alle echten Toxine ist es sehr empfindlich. Luft und Licht schwächen es schnell, desgleichen Temperaturerhöhung schon auf 58° durch 3 Stunden. Auch Alkohol, Aether, oxydierende Substanzen vernichten es schnell, während Reduktionsmittel relativ wenig schädlich sind. Dagegen ist es merkwürdigerweise vom Darmkanal aus wirksam, wie schon VAN ERMENGEM fand und FORSSMAN bestätigte. Magen- und Dünndarmsaft schaden ihm nicht, wohl aber wird es durch Dickdarminhalt schnell zerstört.

BRIEGER & KEMPNER[2]) haben nach der BRIEGERschen Methode das Toxin in konzentriertem Zustande dargestellt.

Das keimfreie Filtrat der Kulturen wird mit Ammoniak etwas abgestumpft und mit dem doppelten Volumen einer 3proz. Chlorzinklösung gefällt. Der Niederschlag wird sorgfältig gewaschen. Dann setzt man vorsichtig eine 1proz. Lösung von Ammoniumbikarbonat zu, bis die Mischung eben äußerst schwach alkalisch reagiert, zersetzt mit Ammoniumphosphat, filtriert vom ausgeschiedenen Zinkphosphat ab und fällt das Toxin mit Ammonsulfat aus.

Sie erhielten so sehr geringe Mengen festen Toxins in quantitativer Ausbeute.

Das Botulismustoxin ist ein spezifisches Nervengift.

KEMPNER & POLLACK[3]) und gleichzeitig MARINESCO[4]) haben seine Wirkung anatomisch studiert, besonders die Veränderungen der Vorderhornzellen, Destruktion, Chromatolyse und Zerfall der NISSLschen Granula, worauf ich hier nicht eingehen kann.

Sehr wichtig ist aber, dass das Botulismusgift infolge dieser starken Affinität zur Substanz des Zentralnervensystems ganz analog dem Tetanusgift von ihr gebunden und unschädlich gemacht wird. KEMPNER

---

1) FORSSMAN, Beitr. z. Kenntn. d. Bakt. d. Botulismus. Autoref. C. f. Bakt., 29, 541 (1901).

2) BRIEGER & KEMPNER, Beitrag z. Lehre v. d. Fleischvergiftung. Dtsch. med. Woch., 1897, 521.

3) KEMPNER & POLLACK, Die Wirkung des Botulismustoxins auf die Nervenzellen. Dtsch. med. Woch., 1897, 505.

4) MARINESCO, Lésions des centres nerveux produites par la toxine du bac. botulinus. Soc. Biol.. 48, 31 (1896); Sem. méd., 1896, 488.

& SCHEPILEWSKI[1]) fanden, dass Gehirn und Rückenmark beträchtliche Mengen Gift zu binden vermögen, und dass sich diese Eigenschaft auch sowohl zu Präventivinjektionen von Gehirnsubstanz, als auch zur Beseitigung bereits in den Körper eingeführten Toxins bis 12 Stunden nachher verwenden lässt. Diese letzteren Fähigkeiten unterscheiden die Substanz des Zentralnervensystems von der Wirkung einiger einfacherer chemischen Stoffe, die zwar ebenfalls in vitro Botulismusgift binden, denen aber die immunisierende und heilende Kraft völlig abgeht; solche Stoffe sind z. B. Lecithin und Cholesterin, nicht Cerebrin. Die Fähigkeit der Gehirnsubstanz wird durch Kochen zerstört.

Nach CHARRIN & BARDIER[2]) wirkt es auch als Herzgift. Es verlangsamt die Herzaktion, und zwar schneller als Diphtheriegift.

KEMPNER[3]) stellte dann auch ein antitoxisches Serum gegen das Botulotoxin her, indem er Ziegen immunisierte. Das Antitoxin wirkt nach dem Gesetz der Multipla. Eine Therapie kann auch hier aber nur binnen 12 St. einen Erfolg haben; besonders die dyspnoïsche Form ist nach FORSSMAN der Therapie unzugänglich. Die praktische Wirksamkeit ist demnach hier so zweifelhaft wie beim Tetanus.

Das Pyocyaneustoxin.

Der Bacillus pyocyaneus, der für viele Tiere sehr stark pathogen ist, produziert ebenfalls ein echtes Toxin. Die giftige Wirkung dieses Bacillus ist vielfach untersucht worden, nicht minder auch die Immunitätserscheinungen, die bei seiner Einführung in den Tierkörper eintreten. Auch fanden sich in der Literatur zahlreiche Arbeiten über die »Giftigkeit« des Bacillus pyocyaneus, wobei natürlich die Giftigkeit der Leiber und der Filtrate nicht getrennt wurde[4]). Im wesentlichen ist jedoch die Immunität gegen Pyocyaneus eine bactericide; nicht gegen das Gift des Bakteriums wird im immunen Körper ein Gegengift produziert, sondern die Bazillen selbst gehen durch ein spezifisch auf sie eingestelltes Agens zu Grunde. Wir finden also hier ähnliche Verhältnisse, wie bei Typhus und Cholera, auf die wir unten eingehen werden.

Indessen liegt die Frage in einem wesentlichen Punkte anders wie bei der Cholera. Während nämlich hier, wie wir unten sehen werden, das supponierte Toxin nur sehr spärlich von den Vibrionen abgegeben

---

[1]) KEMPNER & SCHEPILEWSKI, Ueb. antitoxische Substanzen geg. d. Botulismusgift. Z. f. Hyg., 27, 213 (1898).

[2]) CHARRIN & BARDIER, Action cardiaque, propriété speciale de la botuline. Soc. Biol., 50, 60 (1898).

[3]) KEMPNER, Weit. Beitr. zur Lehre von der Fleischvergiftung. Z. f. Hyg., 26, 481 (1897).

[4]) Die wichtigste Litteratur darüber s. BREYMANN, Ueb. Stoffwechselprod. des Bac. pyocyaneus. C. f. Bakt., 31, 841 (1902).

wird, vielmehr im wesentlichen in den Leibern selbst haftet, lässt es sich beim Pyocyaneus fast restlos von den Leibern trennen, so dass hier ähnliche, sekretorische Vorgänge anzunehmen sind, wie beim Diphtherietoxin.

Wie WASSERMANN[1]) zeigen konnte, verhält sich der Pyocyaneus sehr eigenartig. Häufig vermehrt er sich im Tierkörper, wirkt also infektiös, und dann treten vorwiegend die baktericiden Schutzkräfte in Aktion.

Andererseits aber produziert er in seinen Kulturen ein echtes Toxin, das sich von seiner Leibessubstanz trennen lässt, und das im Organismus ein echtes Antitoxin erzeugt.

Der Pyocyaneus nimmt also eine sehr interessante Mittelstellung zwischen dem rein toxischen Diphtheriebacillus einerseits und den Bakterien vom Choleratypus andererseits ein, bei denen auch die Immunität vorwiegend eine baktericide, nicht antitoxische ist, während die supponierten Endotoxine sich in freiem Zustande bisher nicht haben darstellen lassen.

WASSERMANN konnte zeigen, dass sich dieses Gift fast restlos von den Bazillen trennen lässt, so dass die Leiber, gerade wie bei der Diphtherie, so gut wie gar kein Toxin mehr enthalten; er zeigte aber vor allem, dass man mit lebenden Bazillen in geringer, steigender Dosis eine Immunität erzielt, die sich ausschließlich auf die Bazillen selbst richtete, gegen das Gift ohne jeden Einfluss war.

Andererseits gelang es ihm aber, mit dem löslichen Gift eine echte antitoxische Kraft zu erzeugen. Dabei war das Serum in vitro gar nicht baktericid; trotzdem aber war das giftfest gemachte Tier auch gegen die lebenden Bazillen immun, gerade wie bei der Diphtherie; denn die ihrer schärfsten Waffe, der Giftwirkung, beraubten Bazillen sind im giftfesten Organismus harmlose Gäste, die bald zu Grunde gehen, ohne Schaden zu stiften.

WASSERMANN zeigte damit, dass der Pyocyaneus ein echtes Toxin produziert, das sich somit unzweifelhaft an das Diphtherie- und Tetanustoxin anschließt. Es ist etwas beständiger als diese, besonders gegen Erhitzen. Selbst durch Kochen wird es nicht gänzlich zerstört.

Infolgedessen zeigte sich beim Pyocyaneus eine theoretisch wichtige Thatsache.

Es gelingt nämlich, aus einem neutralen Gemisch von Pyocyaneustoxin und Antitoxin durch Erwärmen das Antitoxin zu eliminieren, so dass das vorher neutrale Serum nunmehr wieder giftig ist. Daraus erhellt mit völliger Sicherheit, dass auch bei den Bakterientoxinen, wie CALMETTE schon vorher für die Schlangengifte gezeigt hatte, nicht etwa eine Zerstörung des Giftes durch das Antitoxin eintritt, sondern dass es sich nur um eine einfache Bindung handelt, die das Toxin unfähig

[1]) WASSERMANN, Unters. üb. einige theoret. Punkte d. Immunitätslehre. Z. f. Hyg., 22, 263 (1896).

macht, sich mit seiner haptophoren Gruppe an die Zelle zu heften und sie zu vergiften.

Wassermann erhielt sein Toxin durch Züchten von Pyocyaneus auf Rindfleischbouillon mit 2 % Peptonzusatz und Sterilisieren mit Toluol. Nähere Untersuchungen des Giftes und seines Antitoxins stehen noch aus. Insbesondere besteht noch die Frage, ob das toxische Prinzip mit dem Pyocyaneolysin, auf das wir später eingehen werden, identisch ist, oder ob der Pyocyaneus, wie wahrscheinlich, wie der Tetanusbacillus zwei selbständige aktive Stoffe, ein Toxin und ein Lysin bildet.

Es lässt sich durch Filtration mit Chamberland-Kerzen isolieren. Seine Giftigkeit lässt sich bis jetzt wenigstens mit der des Tetanustoxins z. B. nicht vergleichen. Wassermann fand die Dosis letalis für Meerschweinchen zu 0,5 cm^3.

Die quantitativen Beziehungen zwischen Pyocyaneustoxin und Antitoxin zeigen eine sehr wichtige Besonderheit.

Das Gesetz der Multipla stimmt hier nämlich nur bis zu etwa der 10fach tödlichen Dosis. Darüber hinaus schützen selbst große Antitoxindosen nicht mehr.

Wie Wassermann wohl mit Recht annimmt, folgt sowohl aus der relativ geringen Giftigkeit, als aus dieser begrenzten Antitoxinbildung, dass das Pyocyaneustoxin sekundäre, aus dem Toxin entstandene, nicht mehr haptoïde Gifte enthält, wie solche bei Cholera und Typhus bisher allein außerhalb des Tierkörpers gewonnen sind. Auch in dieser Beziehung würde also der Pyocyaneus eine Mittelstellung einnehmen zwischen dem relativ beständigere, echte Toxine produzierenden Diphtheriebacillus und den Cholera- und Typhusbakterien.

Die Bakterienhämolysine.

An die echten Toxine schließen sich ganz eng diejenigen Bakterienstoffe an, die eine spezifische Wirkung auf die roten Blutkörperchen entfalten, indem sie ihr Plasma so verändern, dass das Hämoglobin austritt: das Blut also lackfarben wird. Sie sind aber von einem Blutgift gewöhnlicher Art, wie z. B. Phenylhydrazin u. s. w., dadurch prinzipiell unterschieden, dass sie physiologisch als echte Toxine imponieren, d. h. im Organismus Antikörper, Antilysine erzeugen. Sie schließen sich also einerseits an die echten Toxine, andererseits aber an die anderen hämolytischen Haptine: Ricin u.s.w., sowie die spezifischen Hämolysine an, die bei der Einführung körperfremder Erythrocyten und in normalen Seris auftreten. Ob diese Lysine einfache Haptine sind oder vielmehr aus Amboceptor und Komplement bestehen, ist nicht sicher entschieden, doch spricht bis jetzt wenigstens beim Staphylolysin alles dafür, dass es einfache Haptine sind (Bordet, Ehrlich & Morgenroth).

Man kennt dieser bakteriellen Hämolysine bis jetzt genauer zwei, das Tetanolysin und das Staphylolysin. Auch andere Bakterien zeigen hämolytische Wirkungen, doch ist es noch nicht völlig sicher, ob diese auf spezifische Lysine zurückzuführen sind, obgleich allerdings z. B. beim Colilysin Antikörper bekannt geworden sind. Aber es spricht gegen ihre toxinähnliche Natur vor allem die Angabe, dass sie bis 120° thermostabil sind.

Interessant ist noch der Umstand, dass die Resistenz der Blutkörper verschiedener Species gegen die verschiedenen Lysine eine außerordentlich verschiedene ist, und dass gegen jedes von ihnen die Erythrocyten einiger Arten eine natürliche mehr oder minder vollständige Immunität besitzen.

Tetanolysin.

Das Tetanolysin wurde von Ehrlich[1]) in den Kulturen des Tetanusbacillus aufgefunden.

Dass es sich hierbei um ein von dem eigentlichen Tetanusgifte, dem krampferzeugenden Tetanospasmin verschiedenes Gift handelt, erwies Ehrlich durch folgende Gründe:

Das Tetanolysin findet sich in den Kulturen und den daraus hergestellten Präparaten nicht in konstantem Verhältnis zum Tetanospasmin. Es giebt Giftlösungen, die reich an ersterem, relativ arm an letzterem sind, und umgekehrt.

Das Tetanolysin ist gegen äußere Einwirkungen empfindlicher als das eigentliche Toxin.

Das Tetanolysin bindet sich an die Erythrocyten, während das Krampfgift von ihnen in der Lösung gelassen wird.

In dem Maße, wie der Gehalt der Giftlösung an beiden Giften verschieden ist, enthält auch das mit diesen Giften gewonnene Antiserum verschiedene Relativmengen der entsprechenden Antikörper, so dass es bald mehr antitoxisch, bald mehr antilytisch wirkt.

Die Untersuchung des Tetanolysins ist dann von Madsen[2]) im Ehrlichschen Institut in gründlicher Weise vorgenommen worden, dessen Resultate von Kraus & Clairmont[3]) bestätigt wurden.

Madsen stellte sich durch Ausfällen mit Ammonsulfat aus einer Tetanusbouillonkultur ein Präparat her, von dem 0,000001 g die Dosis letalis für eine Maus darstellte.

Dieses Gift löst die Blutkörperchen vieler Tiere; besonders empfindlich ist Kaninchenblut, das zu den Versuchen in 5proz. Aufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung benutzt wurde.

---

[1]) Ehrlich, Ges. d. Charitéärzte, 3. II. 1898. Berl. klin. Woch., 1898, Nr. 12.

[2]) Madsen, Ueber Tetanolysin. Z. f. Hyg., 32, 214 (1899).

[3]) Kraus & Clairmont, Ueber Hämolysine und Antihämolysine. Wien. klin. Woch., 1900, S. 49.

Das Grad der Lösung wird mit Hilfe einer bekannten Blutlösung kolorimetrisch gemessen. Er ist ceteris paribus abhängig von der Menge des zugesetzten Giftes.

Doch sind die einzelnen Blutkörperchen verschieden empfindlich, auch wirkt das Tetanolysin in der Kälte viel schwächer als in der Bruttemperatur, während andere hämolytische Gifte diese Eigenschaft nicht haben.

Das Tetanolysin ist außerordentlich empfindlich. Schon bei Zimmertemperatur wird es, besonders in verdünnten Lösungen in weniger als einer Stunde erheblich schwächer, aber auch konzentriertere Lösungen verlieren bald einen Teil ihrer hämolytischen Kraft. Höhere Temperaturen, schon 50° wirken stark schädigend. Auf Eis lässt es sich 24 Stunden unzersetzt aufbewahren, das trockene Präparat ist durchaus haltbar.

Besonders interessant ist es nun, dass es Madsen gelang, diese Abschwächung auf eine Toxoïdbildung zurückzuführen.

Er verfuhr bei diesen Untersuchungen genau nach den Methoden, die Ehrlich bei der Aufhellung der Konstitution der Diphtheriegifte angegeben hat, d. h. er prüfte die Bindungsverhältnisse mit dem spezifischen Antikörper des Tetanolysins. Dieses Antilysin ist in den Antitoxinpräparaten gegen Tetanus enthalten. Madsen stellte nun zunächst eine Einheit der Giftwirkung und eine Einheit der antilytischen Kraft des Antikörpers fest, nach den Ehrlichschen Methoden, wobei natürlich an Stelle des Tierexperimentes der Reagenzglasversuch, die Feststellung der blutlösenden Kraft, treten musste.

Untersuchte er dann die Verhältnisse, wie sie sich bei der partiellen Sättigung des Giftes mit Antitoxin gestalten, so fand er, dass ganz analog wie beim Diphtherietoxin sich die Absättigung nicht gleichmäßig über die ganze Giftmenge erstreckt, sondern dass sich hier Zonen verschiedener Bindungskraft gegenüber dem Antilysin nachweisen lassen.

Ein Zusatz von nur $^1/_{13}$ der gesamten zur Sättigung der Gifteinheit nötigen Antitoxinmenge setzt die hämolytische Wirkung bereits auf die Hälfte herab; ein Zusatz von $^1/_5$ neutralisiert bereits $^9/_{10}$ des Giftes, von der Hälfte bereits $^{99}/_{100}$.

Es folgt daraus, dass derjenige Teil des Giftes, der die größte Affinität zum Antilysin hat, auch der Träger der wesentlichsten Wirkung ist, dass dann eine zweite und dritte Zone geringerer Affinität folgt, die auch geringere lytische Kraft hat, und dass schließlich eine Zone geringer Affinität mit geringer Giftwirkung das Spectrum des Tetanolysins abschließt.

Wir haben hier also, um uns der für das Diphtheriegift aufgestellten Terminologie zu bedienen, eine Zone höchst wirksamen Prototoxins, der dann eine starke Zone weniger wirksamen Deuterotoxins (Hemitoxin?) folgt, dann folgt die Zone des Tritotoxins und schließlich die

Toxone, die nur noch auf einzelne, besonders empfindliche Erythrocyten wirken und auch viel schwächer und langsamer an sie gebunden werden.

In der Kälte wirken überhaupt nur Proto- und Deuterotoxin (Madsen[1]). Neutralisiert man ein Gift so weit mit Antilysin, dass diese beiden Gruppen inaktiv gemacht sind, so bringt das noch frei gebliebene Tritotoxin selbst in den größten Mengen bei 8° keine Spur von Lösung hervor.

Wie Madsen zeigt, liegt das daran, dass bei dieser Temperatur die toxophore Gruppe des Tritotoxins unwirksam ist, denn gebunden wird es auch bei dieser Temperatur an die Erythrocyten, so dass nach dem Abcentrifugieren einer solchen Mischung und Erwärmen eine Lösung eintritt. Aehnliche Verhältnisse hat Morgenroth für den Tetanus des Frosches nachweisen können (s. S. 108).

Die Analogie mit dem Diphtheriegift zeigt sich auch weiterhin in der Art der Toxoïdbildung. Es schwächt sich nämlich das Tetanolysin sehr schnell ab, und zwar hauptsächlich wie beim Diphtheriegift auf Kosten der Prototoxinzone. Die Deuterotoxinzone ist relativ beständiger.

Wie das Tetanusgift braucht auch das Tetanolysin, im Gegensatz zum Diphtheriegift, einige Zeit, und zwar mehrere Stunden, um sich mit dem Antitoxin zu binden.

Seine Wirkung auf die Erythrocyten tritt ebenfalls nicht sofort ein, sondern erst nach einer gewissen Inkubationszeit, die mit der zunehmenden Menge des Giftes abnimmt.

Arrhenius & Madsen (l. c.) haben diese Inkubationszeit genauer untersucht und auf die Hemmung durch die Membran zurückgeführt (s. im Allg. Teil).

Nach Arrhenius & Madsen ist nun die Annahme von Giftspektren für das Tetanolysin in der eben ausgeführten Weise nicht unbedingt nötig, es lassen sich vielmehr, wie wir im Allg. Teil ausführlich geschildert haben, die quantitativen Beziehungen unter Annahme dissoziierter Gleichgewichtszustände erklären. Ich habe trotzdem die Madsenschen Untersuchungen auch in ihrer ursprünglichen Deutung, in der Beziehung zu den Ehrlichschen Spektren, referiert, weil die Frage, ob hier thatsächlich keine Pluralität der Gifte vorliegt, noch nicht unbedingt entschieden ist.

Dass auch die Toxoïde immunisierend wirken können, wie bei der Diphtherie, lässt sich aus Befunden von Tizzoni & Centanni[2]) schließen, die fanden, dass man durch Tetanospasmin, das scheinbar kein Lysin enthält, auch einen Antikörper gegen das Lysin bekommt.

---

[1]) Madsen cit. n. Dreyer, Z. f. Hyg., 37, 274 (1901).

[2]) Tizzoni & Centanni, Real. Accad. Bologna 1900, cit. n. Neisser & Wechsberg l. c.

Sehr interessant und auch für die Frage nach der Heilwirkung der Antitoxine, d. h. ihrer Fähigkeit, bereits gebundenes Gift wieder von der angegriffenen Zelle loszureißen, von großer Bedeutung sind weitere Versuche, die MADSEN[1]) mit dem Tetanolysin angestellt hat. Er fand, dass durch Zusatz von Antilysin auch die bereits im Blutkörperchen verankerten Lysinmengen wieder losgerissen, das bereits angegriffene Blutscheibchen also »geheilt« werden kann. Nur wächst, wie bei Diphtheriegift und Tetanospasmin, die nötige Dosis sehr schnell. Nach 5 Min. ist bereits die doppelte, nach 15 Min. die dreifache und nach 30 Min. die fünffache Menge der einfach schützenden Dosis notwendig. Darüber hinaus sind genaue Messungen nicht möglich, da dann schon vor dem Zusatz von Antilysin eine so starke Auflösung eintritt, dass die Farbennuance sich nicht mehr mit Sicherheit feststellen lässt.

Pyocyanolysin.

Ein ähnliches blutlösendes Bakteriengift haben BULLOCH & HUNTER[2]) aus Pyocyaneuskulturen gewonnen.

Sie fanden es in 8 verschiedenen Kulturen mit »fast konstantem Erfolg«.

Die hämolytische Wirkung wurde auf die Blutkörperchen der verschiedensten Tierarten ausgeübt und zwar meist in Dosen von 0,5 cm³ der nicht filtrierten, in Dosen von 1,5—2 cm³ der durch CHAMBERLAND-Kerzen filtrierten Kultur. Kaninchenblut zeigte sich etwas resistenter.

In sehr jungen Kulturen ist sehr wenig Pyocyanolysin vorhanden, das Filtrat ist so gut wie frei davon. Bei 3—4 Wochen alten Kulturen findet sich auch im Filtrat das Lysin, doch stets in verminderter Menge gegenüber der Gesamtkultur.

BULLOCH & HUNTER schließen daraus, dass das Lysin in den Leibern der Bazillen verankert ist und erst in älteren Kulturen frei wird. Infolge der Bindung an die Zellen ist es etwas vor der Zerstörung durch Erhitzen geschützt, so dass die Gesamtkulturen ein kurzes (15 Min.) Erhitzen auf 100° vertragen, während in den Filtraten das Gift durch Kochen schnell zerstört wird. Das Antilysin ist noch nicht nachgewiesen.

Diese Befunde sind unmittelbar darauf von WEINGEROFF[3]) im wesentlichen bestätigt worden. Er erhielt indessen das Lysin auch durch Filtration der Kulturen. MARG. BREYMANN[4]) hat dann das Lysin nur in den Filtraten gefunden, auch bei jungen Kulturen.

WEINGEROFF konnte dann direkt nachweisen, dass das Lysin sich an

---

[1]) MADSEN, Ueber Heilversuche im Reagenzglas. Z. f. Hyg., 32, 239 (1899).

[2]) BULLOCH & HUNTER, Ueber Pyocyanolysin. C. f. Bakt., 28, 865 (1900).

[3]) WEINGEROFF, Zur Kenntnis des Hämolysins des Bac. pyocyan. C. f. Bakt. 29, Nr. 20 (1901).

[4]) M. BREYMANN, Ueb. Stoffwechselprod. d. Bac. pyocyaneus. C. f. Bakt., 31, 481 (1902).

Blutkörperchen bindet, während das in derselben Lösung befindliche *Toxin* freiblieb. Damit wäre die Verschiedenheit des Lysins vom Toxin erwiesen.

LUBENAU[1]) fand ebenfalls, dass eine alte (21 Monate) Pyocyaneuskultur sehr intensiv hämolysierte; sie erwies sich als stark alkalisch; beim Neutralisieren wurde die hämolytische Kraft merklich geschwächt, blieb aber *erhalten*.

LOEW & KOZAI[2]) fanden, dass Luftzutritt und Zusatz von Zucker die Bildung des Pyocyanolysins fördern.

Nach BREYMANN soll das *Lysin thermostabil* sein.

Colilysin.

Ein *hitzebeständiges* Blutkörperchen angreifendes Prinzip in den Kulturen des B. coli fand KAYSER[3]).

Es bildet sich bei ganz schwach saurer Reaktion. Es wirkt am stärksten auf Hundeblut, dann folgt Pferd, Rind, Kaninchen, fast gar nicht wirkt es bei Mensch, Meerschwein, Schaf und bei Gans und Taube. Die Wirksamkeitsreihe ist von der des Staphylolysins verschieden.

Das Gift ist in den filtrierten Kulturen vom 3. Tage an enthalten, nicht in den Leibern. Der Hämolyse geht keine Agglutination voraus. Neutralisierung der alkalischen Kultur schwächt die Hämolyse.

Das Lysin erträgt 120° $1/2$ Stunde lang ohne Schaden. Es bindet sich an die Erythrocyten in der Kälte wie ein echtes Toxin, beim Erwärmen tritt Lösung auf. Die *Haltbarkeit* beim Aufbewahren ist eine sehr wechselnde.

Bei subkutaner Injektion entsteht im Organismus ein *Antilysin*, das bei 56° beständig ist. Auch »*Heilungsversuche*«, d. h. Hemmung bereits eingetretener Hämolyse, kann durch Antilysinzusatz erreicht werden (vgl. bei Tetanolysin). Auch normales Serum, *besonders des Pferdes* enthält *Antilysin*.

Das Staphylolysin.

Die Geschichte der Untersuchung der Staphylokokkengifte und ihrer Bedeutung weist im allgemeinen dieselben Irrgänge auf, wie die der Bakterientoxine in der Regel. Glücklicherweise ist hier im Gegensatz z. B. zu den *Streptokokken* durch die letzten Arbeiten Klarheit geschaffen worden.

Von den älteren Arbeiten haben eigentlich nur drei größere Bedeutung. RODET & COURMONT[4]) fanden in Staphylokokkenkulturen eine durch Alkohol

---

[1]) LUBENAU, Hämolyt. Fähigkeiten einzelner pathog. Schizomyceten. C. f. Bakt., 30, 356.

[2]) LOEW & KOZAI, Ueb. d. Bild. des Pyocyanolysins. Malys Jb., 31, 912 (1901).

[3]) KAYSER, Ueb. Bakterienhämolysine, bes. d. Colilysin. Z. f. Hyg., 42, 118 (1903).

[4]) RODET & COURMONT, De l'existence . . . dans des cultures du staphylocoque d'une substance vaccinante. Compt. rend. de l'Acad., 113, 432 (1891).

fällbare immunisierende Substanz. Genauer hat sich Reichel[1]) mit dem Problem befasst. Er konnte durch Filtration von Aureuskulturen ein spezifisches Gift erzielen, das freilich nicht stark toxisch war und gegen das sich Immunität erlangen ließ.

Mosny & Marcano[2]) fanden, dass Staphylokokkenfiltrate schwach toxisch sind und bei Injektion ein Antitoxin erzeugen.

Jetzt wissen wir, dass der Staphylococcus pyogenes aureus zwei spezifische Gifte bildet, von denen eins auf Leukocyten giftig wirkt, das Leukocidin, das andere ein Lysin für die roten Blutscheibchen ist. Auf die Existenz eines auf die roten Blutscheibchen wirkenden Staphylotoxins neben dem Leukocidin haben zuerst van de Velde[3]) und sodann Kraus & Clairmont[4]) kurz hingewiesen. Systematisch wurde indessen dieses Lysin erst im Ehrlichschen Institut von Neisser & Wechsberg[5]) untersucht.

Der Staphylococcus pyogenes aureus bildet ein blutkörperchenlösendes Toxin, das in Bouillonkulturen vom 3.—4. Tage an nachweisbar ist, während das Optimum ca. am 10.—14. Tage liegt. Es entsteht am wirksamsten bei noch schwach saurer Reaktion der Bouillon, wenn $^1/_3$—$^1/_2$ der zur völligen Neutralisierung notwendigen Menge Normalalkali der Bouillon zugesetzt waren. Es lässt sich durch Filtration abscheiden.

Die Produktionskraft der einzelnen Staphylokokkenstämme an Lysin ist sehr verschieden und scheint, wie auch bei den echten Toxinen, in keinem direkten Zusammenhang mit der Virulenz für den Menschen zu stehen. Die echten pyogenen Albus- und Aureusstämme bilden es zwar ausnahmslos; daneben giebt es aber zahlreiche andere nicht pathogene Stämme, die kein Lysin produzieren. Die Menge des gebildeten Lysins ist je nach den einzelnen Stämmen sehr verschieden, ebenso der Zeitpunkt, bei dem das Maximum der Lysinproduktion eintritt; nach Lubenau[6]) schwankt sie beträchtlich innerhalb weniger Stunden. Bei Traubenzuckerzusatz zu den Kulturen wird die Lysinbildung herabgesetzt (Kayser[7]).

---

1) Reichel, Ueb. Immunität gegen das Virus von Eiterkokken. Arch. f. klin. Chirurg., 42, 237 (1891).

2) Mosny & Marcano, De l'action de la toxine du staphyl. pyog. Sem. méd., 1894, 544.

3) *van de Velde, Étude s. l. mécanisme de virulence du staphylocoque pyogène. La cellule, X. — Ders., Contribution à l'immunité des lapins contre le staphylocoque. Ann. Past., X, 580 (1896).

4) Kraus & Clairmont, Ueber Hämolysine u. Antihämolysine. Wien. klin. Woch., 1900, S. 49.

5) Neisser & Wechsberg, Ueber das Staphylotoxin. Z. f. Hyg., 36, 299 (1901).

6) Lubenau, Hämolytische Fähigkeit einiger pathogener Schizomyceten. C. f. Bakt., 30, 356 (1901).

7) Kayser, Einw. d. Traubenzuckers auf Staphylococcus. Z. f. Hyg., 40, 21 (1902).

Das Staphylolysin entspricht den echten Toxinen in seiner Beeinflussung durch äußere Faktoren. Während es im Eisschrank bei Karbolzusatz sich meist lange Zeit unverändert hält, wird es bei 56° in 20 Minuten zerstört, bei 48° geschädigt und verliert schon im Brutschrank in wenigen Wochen seine Wirksamkeit.

Gegen Alkalien, Säuren und Kochsalz ist es in ziemlich weiten Grenzen beständig; doch wirkt namentlich bei Bruttemperatur stärkere Alkalinität schädlich.

Die Blutkörperchen verschiedener Tiere sind gegen dasselbe Lysin beträchtlich verschieden empfindlich; am empfindlichsten scheinen die Erythrocyten des Kaninchens zu sein, während die des Menschen, der Ziege, besonders aber der Gans, viel resistenter sind. Kompliziert werden die Verhältnisse noch durch den Umstand, dass das normale Serum der meisten Tierarten eine mehr oder minder ausgesprochene Schutzkraft gegen das Lysin ausübt, so dass man, um vergleichbare Werte zu erhalten, mit gewaschenen Blutscheibchen operieren muss. Kaninchenblut ist auch abgesehen von seiner besonderen Empfindlichkeit das beste Testobjekt, da das normale Kaninchenserum nur eine ganz minimale Schutzkraft besitzt. Auch bei demselben Blut ist wie beim Tetanolysin eine verschiedene Empfindlichkeit der Erythrocyten zu konstatieren, so dass schon schwache Lysinlösungen einige Blutkörperchen auflösen, während man zur völligen Lösung beträchtlich stärkere Giftlösungen anwenden muss.

Das Antistaphylolysin.

Die Schutzkraft, welche einzelne normale Sera in verschieden hohem Grade gegen Staphylolysin besitzen, ist auf die Gegenwart eines nur auf das Staphylolysin gerichteten spezifischen Antikörpers zurückzuführen. Besonders das normale Pferdeserum enthält ihn bisweilen in so reichlicher Menge, dass schon 0,01 cm³ gegen eine kompakt lösende Staphylolysindosis schützen.

Das normale Pferdeserum schützt häufig auch gegen Tetanolysin. Daraus haben Kraus & Clairmont (l. c.) Rückschlüsse auf die Identität beider Lysine und ihrer Antikörper gezogen. Neisser & Wechsberg konnten aber zeigen, dass einerseits Immunsera, die gegen Staphylolysin schützen, auf Tetanolysin ohne jede Wirkung sind, und dass andererseits Tetanussera, die gegen Tetanolysin energisch schützen, unter Umständen sogar wesentlich schwächer gegen Staphylolysin schützen, als normales Pferdeserum.

Das Staphylolysin zeigt sich also auch insofern als echtes Toxin, als es einen spezifischen Antikörper besitzt, der schon in manchen normalen Seris, auch im Menschenserum, in verschiedener Menge vorhanden ist, und der regelmäßig sich bildet, wenn man ein Tier gegen das Lysin immunisiert. Man erreicht dies durch zwei- bis dreimalige Injektion von

kleinen Dosen, bei Ziegen oder Kaninchen, subkutan oder intravenös, nicht intraperitoneal.

Sehr interessant ist der Schutz, den das Lysin durch seine Bindung an den Antikörper findet. Obwohl nämlich sein Antikörper gegen Temperaturen von 58° resistent ist, bei denen das Lysin bald zerfällt, gelingt es nicht, aus einem normalen Gemisch durch Erhitzen das Toxin zu entfernen, so dass freies Antitoxin zurückbleibt.

Alle Lysine verschiedener Herkunft geben dasselbe, gegen alle wirksame Antilysin, so dass es sich wohl um ein einheitliches Haptin handelt. Wie oben erwähnt, findet sich das Antistaphylolysin konstant im menschlichen Serum, wenn auch in sehr verschiedener Quantität. Ob es sich hier um Produkte der Thätigkeit von Staphylokokken oder um sensu strictiori normale Seitenketten handelt, ist vor der Hand nicht zu entscheiden. Doch ist das Vorkommen von Antikörpern der verschiedensten Art im normalen Serum etwas so häufiges, dass es den Anschein gewinnt, als ob thatsächlich normale Rezeptoren eine Affinität zu den betreffenden Giften besitzen können, die in diesem Falle vielleicht freie, den Blutkörperrezeptoren ähnliche Ambozeptoren darstellen.

Die Konstitution des Staphylolysins.

Das Staphylolysin zeigt in seiner Konstitution große Analogieen mit dem Tetanolysin. Es ist nicht nach dem Typus der Bordet-Ehrlichschen Hämolysine gebaut; d. h. es besteht nicht aus zwei Teilstücken, dem »Amboceptor« und dem »Komplement« wie jene; denn es ist nach dem Erwärmen auf 56°, wo es inaktiviert wird, durch kein normales Serum und durch kein anderes Mittel zu aktivieren; ebensowenig erzeugt dies inaktivierte Lysin noch einen Antikörper, wie es bei den Hämolysinen die wärmebeständigen Zwischenkörper thun. Es ist also nach dem Schema des einfachen Toxins gebaut: an einem Kern sitzen die haptophore und die toxophore Gruppe. Wie bei jenen vermag sich die haptophore Gruppe schon in der Kälte zu verankern, ohne dass wegen der Unwirksamkeit der toxophoren Gruppe Lösung eintritt. Behandelt man Kaninchenerythrocyten bei 0° einige Stunden mit Staphylolysin, so tritt keine Lösung ein; wäscht man nun die Erythrocyten sorgfältig ab und erwärmt dann auf 37°, so tritt Lösung ein. Ganz analoge Bindungs- und Wirkungsverhältnisse haben Morgenroth (l. c.) beim Tetanus des Frosches, Madsen beim Tetanolysin nachgewiesen. Das Staphylolysin schließt sich also eng an die echten Toxine an.

Diese Analogie geht noch weiter. Auf Grund der Ehrlichschen Methode zur Aufstellung der Giftkonstitutionen haben Neisser & Wechsberg eine bestimmte Toxinmenge mit steigenden Bruchteilen der Antitoxineinheit versetzt und so Spectra erhalten, die viele Aehnlichkeiten

mit denen des Diphtherietoxins und des Tetanolysins zeigen. Genauer auf diese Details an dieser Stelle einzugehen, dürfte sich erübrigen.

Auch von anderen Bakterien sind Hämolysine dargestellt worden, so z. B. von LUBENAU (l. c.) und KRAUS & CLAIRMONT (l. c.). U. a. finden sich blutlösende Agentien bei Cholera- und choleraähnlichen Vibrionen. LEVY[1]) erhielt ein Lysin aus Typhuskulturen, das am besten auf Hundeblut wirkte.

Durch Immunisieren mit Typhuskulturen konnte er ein antilytisches Serum erhalten. Das Typhuslysin ist ebenfalls wärmebeständig. Ein ziemlich wärmebeständiges Streptolysin hat BESREDKA[2]) beschrieben.

Es findet sich nur in jüngeren Kulturen und zeigt je nach der Art des Nährbodens verschiedene Eigenschaften. Es wird erst bei 70° in 2 Stunden zerstört und ist indiffusibel.

Es bildet unter keinen Umständen einen Antikörper, scheint also überhaupt kein Haptin zu sein. Aus diesem Grunde gehe ich hier nicht näher darauf ein.

Ein Hämolysin aus den Kulturen des Pneumococcus ist von CASAGRANDI[3]) beschrieben worden. Eigentümlich ist dabei, dass nur die nichtpathogenen Spielarten dieses Diplococcus ein Lysin bilden sollen. Es ist den anderen Toxinen analog konstituiert und bildet einen Antikörper. Außerdem sollen einige Stämme noch ein spezifisches Leukocidin produzieren.

Schließlich sind neuerdings von KRAUS & LUDWIG[4]) spezifische Hämagglutinine aus Bakterienfiltraten beschrieben worden, z. B. aus Staphylococcus und verschiedenen Vibrionen. Sie werden bei 58° zerstört und bilden spezifische Antikörper. Von den spezifischen Hämolysinen sollen sie ganz getrennt werden.

Das Leukocidin der Staphylokokken.

Ganz parallel mit der Produktion von Lysin geht bei den typischen pyogenen Staphylococcus-Arten die Bildung eines löslichen zweiten Toxins, des Leukocidins, das ebenfalls von VAN DE VELDE (l. c.) entdeckt und von BAIL[5]), NEISSER & WECHSBERG[6]) genauer untersucht wurde. Es richtet seine spezifische Wirkung hauptsächlich auf Leukocyten, die es tötet und auflöst, sowie auch einige andere Zellen, wie

---

1) E. & P. LEVY, Ueber die Hämolysine des Ty.-B. C. f. Bakt., 30, 405 (1901).

2) BESREDKA, De l'hémolysine streptococcique. Ann. Past., XV, 880 (1901).

3) CASAGRANDI, L'Emolisina e la Leucolisina Diplococcica. Bull. Soc. Lancis. Rom 27, 2. Bioch. Centr. I, 402 (1903).

4) KRAUS & LUDWIG, Ueb. Bakteriohämagglutinine. Wien. klin. Woch., 1902, 120.

5) BAIL, Ueber leukocide Substanzen in den Stoffwechselprodukten d. Staph. pyog. aureus. Arch. f. Hyg., 32, 133 (1898).

6) NEISSER & WECHSBERG, Ueber eine neue einfache Methode z. Beob. von Schädigungen leb. Zellen und Organismen. Münch. med. Woch., 1900, 1261.

Hämatoblasten, Ganglienzellen u. s. w. Dadurch, dass es die Leukocyten auch im lebenden Organismus zu vernichten scheint, erzeugt es Niereninfarkte und ähnliche Nierenveränderungen. Eine spezifische Wirkung auf das Nierenepithel scheint es dagegen nicht zu besitzen. NEISSER & WECHSBERG prüften seine Wirksamkeit mit Hilfe ihrer »bioskopischen Methode«, indem sie die reduzierende Kraft der Leukocyten als Maß für ihre Lebensfähigkeit benutzten. Als Indicator diente verdünnte Methylenblaulösung. War das Leukocidin wirksam, so blieb die Entfärbung des Methylenblaus aus. Dabei muss natürlich die Menge der vorhandenen Leukocyten mit in Rechnung gezogen werden; dies wurde dadurch erreicht, dass für jedes Exsudat an den lebenden Zellen die einfach reduzierende Dosis L_r vorherbestimmt und auf Grund dieser Feststellung gearbeitet wurde.

Das Leukocidin bildet sich in Bouillonkulturen ca. vom 4. Tage an und erreicht etwa am 8. Tage sein Maximum. In Bezug auf den Einfluss der Alkalinität der Nährbouillon scheinen für das Leukocidin ungefähr dieselben Bedingungen zu herrschen, wie für das Staphylolysin.

Das Leukocidin tritt stets mit dem Lysin verbunden auf. Dieselben Stämme, die Lysin bilden, erzeugen auch Leukocidin, wenn auch durchaus nicht immer in korrespondierender Quantität. Wie beim Lysin steigern Tierpassagen die Giftproduktion. Trotzdem ist es ein von dem Lysin zweifellos verschiedenes spezifisches Toxin, das eigene haptophore und toxophore Gruppen besitzt. Das Lysin bindet sich nicht an Leukocyten. Es geht in die sterilen Filtrate über, ist also ein lösliches Gift.

Es ist etwas empfindlicher als das Lysin. Bei 50° wird es in 20 Minuten zerstört, bei 58° in 10 Minuten. Beim Aufbewahren mit Karbol im Eisschrank schwächt es sich sehr schnell ab, nach 16 Tagen um das 25fache bis 60fache. Schließlich wird es ganz unwirksam.

Es wirkt ziemlich langsam, so dass man die Beobachtung auf 2 Stunden ausdehnen muss. Dass es ein echtes Toxin ist, zeigt seine Fähigkeit, ein Antitoxin zu bilden. DENYS & VAN DE VELDE[1]) hatten zuerst durch Injektionen von Kulturfiltraten ein Antileukocidin erhalten. NEISSER & WECHSBERG fanden zunächst Antileukocidin im normalen Pferde- und Menschenserum, nicht aber in dem des Kaninchens; ebenso erhielten sie durch Immunisierung von Kaninchen und Ziegen stets ein einheitliches Antileukocidin.

Wir haben also in dem Leukocidin der Staphylokokken ein echtes, spezifisch auf Leukocyten wirkendes Toxin vor uns, das in seiner eigenartigen Wirkung bisher ein Analogon nur in dem von CASAGRANDI (l. c.) aufgefundenen Leukocidin des Pneumococcus hat (s. oben).

---

[1]) DENYS & VAN DE VELDE, Sur la production d'une antileucocidine etc. La cellule, XI, cit. n. NEISSER & WECHSBERG.

II. Die Endotoxine.

Das Choleragift.

Die Frage nach der Natur des Choleragiftes und seiner Stellung zu den echten Toxinen ist noch weit davon entfernt, zu einer definitiven Klärung gekommen zu sein. Abgesehen von den direkten Widersprüchen in den experimentellen Resultaten, denen wir leider begegnen, erschwert den Ueberblick über diese Frage und vieler ganz ähnlicher, wie die nach dem Gift des Typhus, des Pneumococcus u. s. w., ein sehr wichtiger Umstand. Die früheren Forschungen über Immunität konnten noch nicht den fundamentalen Unterschied zwischen der antitoxischen und der baktericiden Immunität machen, und so hat man denn anfangs nie zielbewusst nach der Existenz eines Choleratoxins und -antitoxins gesucht. Aber auch jetzt noch ist das sehr erschwert, da zweifellos die Choleraimmunität im wesentlichen eine baktericide ist, und die antitoxische, wenn sie überhaupt existiert, außerordentlich dagegen in den Hintergrund tritt. Auch bei der Einimpfung toter Leiber tritt augenscheinlich eine rein antibakterielle Immunität ein.

Die Geschichte des Choleragiftes beginnt mit R. Koch[1]), der bereits die Cholera als eine Intoxikationskrankheit ansah, doch gelang es ihm erst nach mühevollen Versuchen, eine schnelle Intoxikation, aber auch nur mit lebenden Bazillen zu erzielen. Dagegen erhielten Nicati & Rietsch[2]) giftige Filtrate ohne spezifische Wirksamkeit, ebenso van Ermengem[3]). Dann folgten, wie überall, die Untersuchungen der aus den Kulturen gewonnenen löslichen, krystalloïden Stoffe ptomaïnartiger Natur, die aber bald als nicht verantwortlich für die toxische Wirkung der Vibrionen erkannt wurden. Auch die Toxalbumine, die Brieger & Fränkel nach ihrer Methode aus Cholerakulturen isolierten, erwiesen sich ihnen selbst bereits als nur in geringem Maße giftig wirkende, aber keine spezifischen Wirkungen hervorrufende Stoffe. Speziell war ihr Choleratoxalbumin in Wasser unlöslich und für Kaninchen ungiftig.

Der erste Erfolg, ein giftiges und annähernd spezifisch wirksames Produkt aus dem Vibrio Koch zu isolieren, war Petri[4]) vergönnt. Er fand in den Peptonkulturen ein lösliches Gift, das, allerdings in ziemlich großen Dosen (2 cm³), Meerschweinchen unter Hypothermie und

---

1) R. Koch, Vortr. über die Cholera. Berl. klin. Woch., 1884, S. 498. — Ders., Zweite Conferenz z. Erört. d. Cholerafrage. Ebd., 1895, 37a, S. 8.

2) Nicati & Rietsch, Effets toxiques des produits etc. Compt. rend. de l'acad., 99, 929 (1884).

3) van Ermengem, Sur l'inoculation des produits de culture du bacille virgule. Bull. Acad. méd. belg., III, 18, 1221 (1884).

4) Petri, Unters. üb. die d. d. Wachstum der Cholerabakt. entstehenden chemischen Umsetzungen. Arb. Kais. Ges.-Amt, VI, 374 (1890).

anderen Erscheinungen der Choleraintoxikation tötete. Freilich weicht sein »Toxopepton« insofern stark von den echten Toxinen ab, als es das Kochen verträgt. Er bestätigte auch die weittragende Beobachtung, die zuerst CANTANI[1]) gemacht hatte, dass die abgetöteten Leiber stets noch reichlich Gifte enthalten, so dass die filtrierte Kultur niemals die Giftigkeit der sterilisierten Gesamtkultur aufwies. KLEMPERER[2]) fand auch, dass die toten Leiber noch giftig und bei Abstumpfung der Magensäure und Ruhigstellung des Darmes auch per os wirksam sind.

Es folgen dann Versuche von HUEPPE[3]) und SCHOLL[4]) aus anaëroben Kulturen in Eiern und Fällung mit Alkohol ein »Toxin« zu erhalten, die aber von GRUBER & WIENER[5]), WESBROOK[6]) und DÖNITZ[7]) widerlegt wurden, die wirksame, spezifische Gifte auf diesem Wege nicht erhalten konnten.

GAMALEÏA[8]) nahm eine Duplizität von Choleragiften an. Er kultivierte die Vibrionen 15 Tage in Bouillon aus Kalbsfüßen und sterilisierte bei 120°. Das so erhaltene Gift tötet unter starkem Temperaturabfall und Lähmungen, sowie Hyperämieen der Bauchorgane. Eine Gewöhnung an dieses Gift tritt absolut nicht ein. Es stammt aus den Leibern der Vibrionen und ist nukleïnähnlich. Die Kulturen enthalten aber außerdem ein wärmelabiles Gift, ein Nukleoalbumin, das in den bei 58° sterilisierten Kulturen sich findet, während die Filtrate sehr wenig toxisch sind. Es bewirkt sehr heftige Durchfälle und andere choleraähnliche Symptome.

WASSERMANN[9]) fand, dass die toten Leiber in der 8—12fachen Menge wie die lebenden Vibrionen ein Meerschweinchen unter typischen Erscheinungen töten. Durch Eindampfen der Kulturen und Ausfällen mit Alkohol erhielt er ein Gift, das in einer Dosis von 0,02 g tödlich auf Meerschweinchen wirkte, aber keine antitoxische Immunität auslöste. PFEIFFER & WASSERMANN[10]) und JSSAEFF[11]) geben an, dass das

---

[1]) CANTANI, Giftigkeit der Cholerabazillen. D. med. Woch., 1886, 789.

[2]) KLEMPERER, Ueb. künstlichen Impfschutz gegen Choleraintoxikation. Berl. klin. Woch., 1892, 789.

[3]) HUEPPE, Ueb. d. Aetiologie u. Toxikologie der Cholera asiatica. D. med. Woch., 1891, 417.

[4]) SCHOLL, Unters. üb. giftige Eiweißkörper bei Cholera asiatica. Arch. f. Hyg., 172 (1892).

[5]) GRUBER & WIENER, Ueb. d. intraperiton. Cholerainfektion. Wien. klin. Woch., 1892, 543.

[6]) WESBROOK, Contrib. à l'étude d. toxines du Choléra. Ann. Past., VIII, 318 (1894).

[7]) DÖNITZ, Ueb. d. Verhalten d. Chol.-Vibr. im Hühnerei. Z. f. Hyg., 20, 31 (1895).

[8]) GAMALEÏA, Recherches expér. sur les poisons du choléra. Arch. de méd. expér., 1892, 173.

[9]) WASSERMANN, Unt. üb. Immun. geg. Chol. asiatica. Z. f. Hyg., XIV, 35 (1893).

[10]) PFEIFFER & WASSERMANN, Unt. üb. das Wesen d. Choleraimmunität. Z. f. Hyg., XIV, 46 (1893).

[11]) ISSAEFF, Unt. üb. d. künstl. Imm. geg. Cholera. Z. f. Hyg., XV, 287 (1894).

Serum immuner Tiere keine Antitoxinimmunität überträgt. KLEMPERER[1]) fand die filtrierten Kulturen schwach giftig.

WESBROOK hat dann die Frage einer weiteren Untersuchung unterzogen. Er züchtete die Vibrionen auf Alkalialbuminat, das keine Biuretreaktion gab. Nach 3 Wochen trat deutliche Biuretreaktion auf. Das durch Porzellan filtrierte Gift hatte eine für Meerschweinchen tödliche Dosis von 0,5—1,5 cm^3 und immunisierende Kraft.

Er versuchte es dadurch zu isolieren, dass er das Alkalialbuminat durch Neutralisieren mit HCl fällte, bei 40° das Filtrat im Vacuum eindampfte und unter Zusatz von etwas Alkohol dialysierte. Sowohl das gefällte Albuminat, als auch die im Filtrat gebliebene Albumose waren toxisch.

Auch auf eiweißfreien Nährböden nach USCHINSKY erhielt er bei Zusatz von etwas NaOH bei reichlichem Wachstum ein Gift, das nach oberflächlicher Reinigung eine braune Substanz ergab, die keine Biuret-, nur schwache Xanthoproteïnreaktion zeigte. Sie wirkte giftig und immunisierend. Er schließt daraus, dass das Choleragift an die Eiweißstoffe nur gebunden ist, selbst aber kein Eiweißkörper ist.

Immerhin aber fand sich dieses Gift nur spärlich in den Kulturen und war zudem von sehr geringer Toxizität im Vergleich zu Diphtherie- und Tetanustoxin, so dass PFEIFFER[2]) für das Choleragift eine ganz andere Natur und Entstehungsweise proklamierte, wie für diese echten Toxine. Er vertritt nämlich die Auffassung, dass das Choleragift nicht ein Sekretionsprodukt der Vibrionen ist, sondern ein im normalen Zustand innerhalb der Leiber festgebundener Stoff (ein »Endotoxin«), der nur dann den Bakterienleib verlässt, wenn die Zelle abstirbt. So erklärt sich die relativ geringe Toxizität filtrierter Kulturen gegenüber der hohen Giftigkeit der lebenden und auch, wie PFEIFFER nachwies, der toten Bazillen.

PFEIFFER führt zur Bekräftigung seiner Ansicht folgende von ihm gefundene Thatsachen ins Feld:

Das keimfreie Filtrat der Bouillonkulturen ist nur etwa halb so giftig als die gesamte Kultur nach dem Kochen. Filtriert man die gekochten Kulturen, so ist das keimfreie Filtrat giftiger als vor dem Kochen. Kocht man dagegen das Filtrat der unveränderten Kulturen, so geht die Giftigkeit verloren.

Tötet man die Vibrionen durch Chloroform oder Thymol, so bleibt die Giftigkeit erhalten, dagegen wirkt Alkohol und Ausfällen mit Ammonsulfat schädlich. Lässt man die Vibrionen langsam eintrocknen, wobei sie absterben, so bleibt ihre Giftigkeit erhalten. Erhitzt man sie dann und

---

[1]) KLEMPERER, Schutzimpf. d. Menschen geg. asiat. Cholera. Berl. klin. Woch., 1892, 970.

[2]) PFEIFFER, Unters. üb. d. Choleragift. Z. f. Hyg., XI, 393 (1892).

filtriert die Aufschwemmung durch CHAMBERLAND-Filter, so ist das Filtrat ungiftig, ebensowenig lässt es sich durch Glycerin aus den Leibern extrahieren. PFEIFFER nimmt ein primäres, sehr empfindliches Gift an[1]), das durch Erhitzen in ein zwar ähnlich wirkendes, aber 10—20mal schwächeres übergeführt wird, das sekundäre Gift, wie es SCHOLL u. a. dargestellt haben. Aehnlich sollen sich Vibrio Metschnikoff und andere Vibrionen verhalten.

PFEIFFER[2]) hält auch an seiner Auffassung fest, nachdem RANSOM[3]) angegeben hat, ein stark wirksames immunisierendes Choleragift aus den Kulturen dargestellt zu haben, und vorher schon SOBERNHEIM[4]) aus alten, in ausgiebigem Zerfall begriffenen Kulturen ein auch per os wirkendes Gift durch Filtration gewonnen hatte, das auch Immunität erzeugt. RANSOM selbst hatte nähere Details über die Bereitung seines Giftes nicht gegeben, doch hat BEHRING[5]) später angegeben, dass dies RANSOMsche Gift aus 5—10tägigen Kulturen durch kurzes Erhitzen auf 100°, Filtration durch PUKALL-Filter und Fällung mit Alkohol gewonnen wurde.

Dieses feste Gift soll die Versuchstiere unter heftigen, choleraähnlichen Erscheinungen töten. Es soll im Organismus des Versuchstieres eine geringe Antitoxinbildung (Festigung gegen die 4—6fache Dosis letalis) auslösen, und wäre demzufolge als echtes Toxin anzusehen. Dagegen spricht die Beständigkeit gegen Erhitzen, die ihm nach RANSOM innewohnt und seine relativ geringe Giftigkeit (0,07 g des festen Giftes sind für Meerschweinchen tödlich). PFEIFFER hielt demgemäß das RANSOMsche Gift für ein sekundäres Produkt, und meint, die antitoxischen Fähigkeiten, die es auslösen soll, seien nicht höher als die des normalen Serums.

METSCHNIKOFF, ROUX & TAURELLI-SALIMBENI[6]) bekämpfen die PFEIFFERsche Annahme mit folgenden interessanten Versuchen:

Sie bringen in sterile Kollodiumsäckchen 3—4 cm³ einer Peptonlösung, die sie zum Teil mit lebenden, zum Teil mit durch Chloroform abgetöteten Vibrionen beschickt haben, schließen die Säckchen hermetisch zu und bringen sie in die Bauchhöhle von Meerschweinchen. Das mit toten Vibrionen auf diese Weise behandelte Tier erkrankt leicht,

---

[1]) S. a. PFEIFFER, Studien zur Cholera-Aetiologie. Z. f. Hyg., XV, 268 (1894).

[2]) PFEIFFER, Ueber die spezifischen Antikörper der Cholera. Z. f. Hyg., 20 217 (1895). — Ders., Ein neues Grundgesetz der Immunität. D. med. Woch., 1896, Nr. 7 und 8.

[3]) RANSOM, Choleragift u. Choleraantitoxin. D. med. Woch., 1895, 457.

[4]) SOBERNHEIM, Experim. Unters. üb. Choleragift und Choleraschutz. Z. f. Hyg., XIV, 485 (1893).

[5]) BEHRING, Untersuch. RANSOMS üb. die Agglutination der Choleravibrionen. D. med. Woch.. 1898, 294.

[6]) MESCHNIKOFF, ROUX & TAURELLI-SALIMBENI, Toxine et Antitoxine cholérique. Ann. Past., X, 257 (1896).

während das mit lebenden vergiftete nach 3—5 Tagen unter typischen Choleraerscheinungen zu Grunde geht. Die Sektion ergiebt die der Cholera zukommenden Veränderungen, aber in keinem Organ finden sich Vibrionen, wohl aber *lebend* in dem Säckchen.

Einige der Tiere blieben am Leben, und zeigten nun eine erhöhte Resistenz.

Das eindeutige Resultat dieser Versuche ist folgendes:

In den Kulturen, die dieses abgeschlossene Säckchen enthält, das gewissermaßen das Modell einer Darmschlinge darstellt, bildet sich ein lösliches, durch die Kollodiumwand hindurchdiffundierendes Gift, das entstanden ist, während die Vibrionen in dem Säckchen kräftig gedeihen. Dagegen spaltet sich aus den toten Leibern nur wenig Gift ab, gerade genug, um eine leichte Erkrankung hervorzurufen.

In den Säckchen wachsen die Vibrionen zuerst vorzüglich, nehmen aber bald andere Formen an und *vermehren sich nicht mehr*; sie sind aber nicht abgestorben, sondern wachsen auch nach Monaten noch auf Nährböden. Passagen durch Tierkörper nach intraperitonealer Injektion liefern wieder Kulturen von hoher Virulenz.

Sie versuchten nun auch dieses Gift aus den Kulturen der so virulent gemachten Vibrionen zu erhalten. Alte Kulturen sind relativ wenig giftig, sie benutzten deshalb ganz junge, von 2—48 Stunden bis 3 bis 4 Tagen.

Sie waren, filtriert, giftig mit einer Toxizität von durchschnittlich 0,3 cm^3 pro 100 g Tier. Zusatz von Serum zur Nährflüssigkeit steigert die Toxizität, ebenso das Wachstum auf der Kultur einer *Torulaart*.

Auch das so von ihnen dargestellte Gift ist *unempfindlich gegen Kochen*, wird dagegen durch Luft und Licht bald unwirksam. Hermetisch abgeschlossen hält es sich lange. Alkohol und Ammonsulfat fällen es aus. Es ist ganz analog dem Ransomschen Gift. Durch Injektion steigender Dosen kann man eine *antitoxische* Immunität herbeiführen, die allerdings größer ist als die des normalen Serums, aber doch *äußerst geringwertig* im Verhältnis zu Diphtherie- und Tetanusantitoxin. Im günstigsten Fall neutralisierte 1 cm^3 die 6fache tödliche Dosis! Es steht im Gegensatz zu dem baktericiden Antiserum Pfeiffers, das man durch Immunisierung mit toten Vibrionenleibern erhält, und das ohne jede neutralisierende Wirkung auf das Toxin ist. Das spricht dagegen, dass die toten Leiber nennenswerte Mengen des immunisierenden Toxins freigeben, denn sonst müsste dies beim Freiwerden auch seine antitoxinbildende Kraft beweisen.

Auch Courmont & Doyon[1]) erhielten lösliche filtrierbare Gifte von freilich geringer Toxizität (4 cm^3 (!) Dosis letalis für ein Kaninchen). Es

---

[1]) Courmont & Doyon, Effets de la toxine cholér. Arch. de phys., 28, 785 (1896).

bewirkt Hypothermie und Hämorhagieen sowie schlaffe Lähmungen und peripherische Neuritis. Es ist äußerst empfindlich gegen Licht und Luft. Bei 53° sterilisierte Kulturen erwiesen sich als etwas giftiger.

HAHN[1]) dagegen erhielt nach BUCHNER aus lebensfrischen Kulturen mit Hilfe der Zermalmung und Auspressung bei 4—500 Atmosphären Druck ein Choleraplasmin, in Gestalt einer gelbbraunen Flüssigkeit, das in Dosen von 0,5—0,6 cm^3 Meerschweinchen nach 8 Tagen gegen die zehnfache Dosis letalis schützte. Besonders interessant dabei ist, dass erstens diese Plasmine sehr wenig toxisch sind, und dass die von ihnen verliehene Immunität scheinbar eine echt bakterieide ist; es ist nicht von der Hand zu weisen, dass hier Stoffe aus der Zelle ausgepresst und wirksam sind, welche die Entstehung von baktericiden Zwischenkörpern auslösen. Diese Frage ist prinzipiell von großer Wichtigkeit und wird uns besonders beim Tuberkulin (siehe dieses) beschäftigen. Für die Frage nach den Giften und Antitoxinen der Cholera sind die BUCHNERschen Plasmine nicht zu verwerten.

Es ist nicht ganz leicht, aus diesen scheinbar widersprechenden Versuchsresultaten ein geschlossenes Bild von der Art und Wirksamkeit des Choleragiftes zu entwerfen.

Dazu muss zunächst die Fragestellung im Sinne unserer theoretischen Vorstellungen über die bakteriellen Toxine in anderer, schärferer Weise präzisiert werden.

Es heißt nicht mehr: »Produzieren die Vibrionen ein lösliches Gift, das choleraähnliche Erscheinungen auslöst«, sondern man muss fragen, ob sie ein Toxin produzieren, das heißt ein Gift, das sich spezifisch bindet und eventuell spezifische, antitoxische Immunität erzeugt.

Wenn wir die Frage so stellen, so scheint sich aus den Resultaten mit einiger Wahrscheinlichkeit folgender Schluss ziehen zu lassen.

Die Vibrionen scheinen thatsächlich ein echtes Toxin zu produzieren, das sehr empfindlich gegen alle Einflüsse ist und schon beim Altern der Kulturen sich weiter umwandelt in noch näher zu untersuchender Weise. Jedoch zeigt dieses Toxin insofern eine wesentliche Abweichung von dem Diphtherietypus, als es nicht wie die Toxine dieser Art frei und fast restlos von den Vibrionen sezerniert wird, sondern intra vitam von ihnen energisch festgehalten zu werden scheint. Es liegen danach hier ganz ähnliche Eigentümlichkeiten vor, wie sie sich bei den echten Fermenten finden. Während z. B. die Hefezelle nur ein Enzym, die Hefendiastase sezerniert, enthält sie außerdem noch andere, z. B. die Invertase und die Maltase, die aus der lebenden Hefezelle nicht herausgehen, sondern erst nach dem Abtöten derselben oder nach der Zerreißung ihrer Membran durch Glaspulver extrahierbar sind.

---

[1]) HAHN, Immunisierungs- u. Heilversuche mit den plasmat. Zellsäften u. s. w. Münch. med. Woch., 1897, 1344.

Außerdem enthält die Hefezelle noch die Zymase E. Buchners, die erst nach einer ganz gewaltigen Einwirkung durch Zerreiben und Auspressen mittelst hoher Drucke freigemacht werden kann.

Ganz ähnlich verhält sich auch das invertierende Enzym der Monilia candida, das auch bei Toluolzusatz wirksam ist, aber bisher auf keine Weise aus dem Zellleib des Pilzes herauszubringen ist[1]).

Dass auch gerade der Choleravibrio solche fest gebundenen, aber doch durch eingreifende Mittel isolierbaren Fermente in sich birgt, haben Geret und Hahn durch die Isolierung eines proteolytischen Fermentes bewiesen. In ähnlicher Weise scheint nun auch das Toxin fest an die lebende Zelle gebunden, ein Endotoxin im Sinne der Endoenzyme zu sein. Nach dem Absterben derselben tritt es dagegen, zum Teil wenigstens, gerade wie bei der Hefeninvertase in die Medien über, so dass, wie Pfeiffer gezeigt hat, durch Thymol u. s. w. oder Austrocknen getötete Kulturen ihre volle Giftigkeit kund geben; dass das Toxin aber beim Absterben der Vibrionen wirklich frei, in dem Medium gelöst und diffundierbar wird, das zeigen wieder die Versuche von Metschnikoff, Roux & Taurelli-Salimbeni, dass sie aus den mit lebenden Vibrionen beschickten Kollodiumsäckchen heraus ihre Giftwirkung entfalten. Denn zweifellos wird bei dieser Versuchsanordnung, dem üppigen Wachstum auf beschränktem Nährboden, dem Neubildungsprozess von Vibrionen ein Absterbungs- und Zerfallsprozess parallel gehen. Und da nun hier das Toxin sofort nach dem Entstehen, geschützt vor jeder schädlichen Einwirkung, seine Wirksamkeit auf den Organismus entfalten kann, so werden wir in diesem Fall eine Wirkung des primären, echten Choleratoxins mit einiger Wahrscheinlichkeit annehmen können. Wahrscheinlich wird dieses supponierte echte Toxin auch bei der wirklichen Choleravergiftung im lebenden Organismus wirksam sein. Und dieses Toxin soll dementsprechend auch eine antitoxische Reaktion im Organismus auslösen. Dass diese so geringfügig ist, darf nicht wundernehmen, denn erstens kann die Menge des so frei gewordenen Toxins nur sehr gering sein, so dass ein hoher Immunisierungsgrad nicht zu erwarten ist, und außerdem misst man diesen Grad der antitoxischen Wirkung dann an einem fertigen Gift, das sekundär verändert ist, und wie wir unten sehen werden, wahrscheinlich viele Toxoïde enthält, so dass die antitoxische Kraft des Serums dadurch als zu klein erscheinen muss. Beim Absterben und Zerfallen geben also die Choleravibrionen einen Teil ihres Endotoxins an die Medien ab; dass sie aber einen anderen, größeren Teil auch dann noch festhalten, wie die Hefe die Zymase, ist sehr wahrscheinlich.

---

[1]) Näheres über diese »Endoenzyme« siehe in meinem Buche: »Die Fermente und ihre Wirkungen«, II. Aufl., Leipzig 1903.

Vielleicht gelingt es nach dem Verfahren von CONRADI[1]), das dieser an Typhusbazillen erprobt hat, nämlich durch die aseptische Autolyse, das primäre Choleragift darzustellen.

Dieses primäre Gift, ein echtes Toxin, ist außerordentlich sensibel, auch darin der Zymase gleichend, und deshalb nur unter so günstigen Bedingungen in voller Wirksamkeit zu demonstrieren, wie es METSCHNIKOFF u. s. w. in dem oben geschilderten Versuche gethan haben.

Sonst entzieht es sich der Beobachtung: abgetötete Kulturen werden nur noch sehr wenig davon enthalten, und so erklärt sich der Misserfolg, es als chemischen Stoff zu isolieren und auch die nur geringe Giftwirkung der mit toten Leibern beschickten Kollodiumsäckchen.

Mit der Schwächung der Vitalität der Zelle schwächt sich auch ihr Gehalt an echtem Toxin sehr schnell, und so findet man denn in abgetöteten, oder in alten Kulturen fast nur noch jenes sekundäre, hitzebeständige Gift, das die verschiedenen Autoren beschrieben haben. Dies ist sicherlich kein echtes Toxin mehr, da es das Kochen verträgt und relativ wenig giftig ist. Auch dieses Gift wird nur wenig sezerniert, aber es ist wenigstens so beständig, dass man es wirklich darstellen kann, getrennt von dem Zellleib der Vibrionen. Er hat ebenfalls noch eine geringe antitoxinbildende Kraft; es zeigt also alle Charaktere, die den EHRLICHschen Toxoïden zukommen: stark verminderte Giftigkeit, größere Beständigkeit und Fähigkeit, Antitoxin zu bilden und zu binden.

So können wir aus dem Gesagten mit einiger Wahrscheinlichkeit den Schluss ziehen, dass der Choleravibrio primär ein echtes Toxin und zwar ein der Hefeninvertase vergleichbares Endotoxin, das er intra vitam kaum in 'die umgebenden Medien sezerniert, erzeugt, dass dieses Toxin außerordentlich labil ist und sehr leicht in eine sekundäre toxoïdreiche Giftmischung übergeht.

Daneben ist es freilich sehr wahrscheinlich, dass auch der Choleravibrio außer diesen, von ihm sehr widerwillig sezernierten Giften noch in seinem Protoplasma, wie wohl alle Bakterien, ein einfaches, nicht spezifisches Bakterienproteïn enthält, das entzündungserregend wirkt, wie auch das z. B. des Diphtheriebacillus. Nur kann man hier die enzymatischen Gifte nicht so quantitativ entfernen, wie bei der Diphtherie, so dass eine objektive Entscheidung, ob hier neben den spezifischen Giften noch ein solches giftiges Proteïn enthalten ist, schwer zu erbringen ist.

Das Choleraantitoxin.

Wir haben in dem eben Gesagten auseinandergesetzt, dass es wahrscheinlich ein in geringer Menge antitoxinerzeugendes Choleratoxin giebt.

---

[1]) CONRADI, Ueber lösliche, durch Autolyse erhaltene Giftstoffe. D. med. Woch., 1903, Nr. 2.

Freilich ist der hierfür ausschlaggebende Nachweis, dass das Serum der Versuchstiere eine antitoxisch wirksame Substanz enthält, durchaus nicht einwandsfrei erbracht. Solange aber das Choleraantitoxin in den Körperflüssigkeiten nicht wirklich nachgewiesen ist, muss die ganze Frage, ob der Vibrio Koch ein echtes Toxin produziert, als eine offene angesehen werden.

Die Frage, ob das Serum der Versuchstiere antitoxische Immunität verleiht, fällt nicht unbedingt mit der theoretisch allein wichtigen zusammen, ob es nicht doch Antitoxin enthält. Dieses Antitoxin könnte einerseits sehr unbeständig sein, es könnte andererseits bei seiner geringen Menge und der großen Verdünnung bei der Einführung in den Tierkörper unwirksam sein. So sind die negativen Resultate, die Pfeiffer, Kolle, Wassermann, Issaeff u. a. an Versuchstieren, Lazarus[1]) an Cholerarekonvaleszenten erhielt, auch dann noch zu verstehen, wenn es wirklich ein Choleraantitoxin giebt, wofür ein Beweis bisher allerdings nicht erbracht ist.

Das Typhusgift.

Fast genau dasselbe, wie beim Choleragift, hätten wir vom Typhus zu berichten, nur ist das experimentelle Material hier weitaus geringer und die Frage nach der Existenz eines Toxins und Antitoxins noch nicht über die ersten Anfänge hinaus.

Sicher ist nur, dass der Typhus unter Umständen eine echte Intoxikationskrankheit sein kann, dass also die Bakterien ein wirksames Gift produzieren müssen. Andererseits ist es aber ebenso sicher, dass die Immunität gegen Typhusbazillen im wesentlichen gerade wie bei der Cholera nicht eine antitoxische, sondern eine bactericide ist, und eine antitoxische Immunität, wenn überhaupt, nur in geringer Bedeutung existiert.

Auch hier beginnt die Geschichte der Giftforschung mit den Arbeiten Briegers, der zuerst das Typhotoxin[2]) und späterhin sein Toxalbumin darstellte.

Diese und ähnliche Präparate sind nicht das spezifische Typhusgift.

Dagegen sind, wie zuerst Beumer & Peiper[3]), dann Chantemesse & Widal[4]) fanden, die bei 100 bis 120° im Autoklaven sterilisierten Kulturen giftig, und zwar in der 5—6fachen Dosis der lebenden; sie sind um so giftiger, je älter sie sind.

---

1) Lazarus, Ueb. antitoxische Wirksamkeit des Blutserums. Berl. klin. Woch., 1892, 43/44.

2) Brieger, Weiteres über Ptomaine. Berlin 1885.

3) Beumer & Peiper, Bakt. Stud. üb. Typhusbaz. Z. f. Hyg., II, 110 (1887).

4) Chantemesse & Widal, L'immunité contre le virus de la fièvre typhoide. Ann. Past., II, 1888, 54. — Ders., Ét. expérim. etc. de l'infection typhique. Ibid., VI, 755 (1892).

Lösliche Gifte haben BRIEGER, KITASATO & WASSERMANN (l. c.) durch Erhitzen auf 80—90° und Fällen mit Alkohol erhalten, ebenso beim Einengen der Kulturen bei 37° und Fällen mit Alkohol. Es wirkte schwach toxisch und immunisierend. Filtrate erwiesen sich als absolut unwirksam. SIROTININ[1]) erzielte ein spezifisch (?) wirksames Gift durch Filtration, was von PFEIFFER & KOLLE[2]) durchaus geleugnet wird. BITTER[3]) durch Extraktion mittels konz. Glycerins und Eindampfen im Vacuum bei 36°.

SANARELLI[4]) hat sehr giftige Typhuskulturen, die mehrfach durch intraperitoneale Einimpfung in Mäuse giftiger gemacht waren, auf Glycerinbouillon einen Monat bei 37° gezüchtet und sterilisiert; aus ihnen erhielt er durch mehrtägige Mazeration bei 60° ein sehr schwaches, beim Meerschweinchen und Affen spezifisch auf die Schleimhäute besonders des Darms wirksames lösliches Gift. Die tödliche Dosis für Kaninchen betrug 10 cm³ pro kg. Die Erscheinungen boten aber bei diesem Tier nichts Spezifisches.

RODET[5]) fand in filtrierten Typhuskulturen eine geringe Toxizität mit Temperatursteigerung und lokalen Nekroseerscheinungen; die Leiber sollten kaum mehr giftig sein. Besonders wichtig sind die Angaben von CHANTEMESSE[6]), der auf einem Milzextrakt, der durch Pepsin angedaut und wieder neutralisiert war, ein sehr energisch wirksames Typhustoxin erhielt, das sich an der Luft schnell zersetzt. Auch hier finden wir wieder dieselbe Angabe wie bei der Cholera, dass das Gift bei 100° nicht völlig zerstört, d. h. also wohl in eine weniger giftige, aber beständigere Modifikation übergeführt wird. Möglicherweise handelt es sich auch hier um Toxoïde.

Es bewirkt bei empfänglichen Tieren Erschlaffung, Lähmungen, ferner besonders bei intravenöser Injektion Pulsbeschleunigung und Sinken des Blutdruckes.

Per os ist es unschädlich.

Hühner und Tauben sind fast refraktär, andere Tiere sehr verschieden empfänglich. Kaninchen sind dreimal empfindlicher als Meerschweinchen.

Auch MARTIN[7]) fand in filtrierten Typhuskulturen lösliche Gifte; er

---

[1]) SIROTININ, Die Uebertrag. von Typhusbazillen auf Versuchstiere. Z. f. Hyg., I, 465 (1886).

[2]) PFEIFFER & KOLLE, Ueb. d. spez. Reaktion d. Typhusbazillen. Z. f. Hyg., 21, 203 (1896).

[3]) BITTER, Ueb. Festig. v. Versuchstieren geg. d. Intoxikation durch Typhusbazillen. Z. f. Hyg., XII, 298 (1892).

[4]) SANARELLI, Études sur la fièvre typhoide expérim. Ann. Past., VIII, 193 (1894).

[5]) RODET, Sur les proprietés toxiques des cultures des bacilles d'Ebert. Soc. Biol., 50, 774 (1898).

[6]) CHANTEMESSE, Toxine typhoide soluble. Progr. méd., 1898, 245. — Ders., Lösliches Typhustoxin. Wien. med. Blätter, 1898, 18ff.

[7]) MARTIN, Die chem. Prod. path. Bakt. Wien. med. Blätter, 1898, Nr. 25ff.

nimmt an, dass das in den Leibern haftende mit diesem identisch ist. Er züchtet die Bazillen auf einer Alkalialbuminat enthaltenden Bouillon, die er auch zum Teil aus Milzextrakten gewann.

Die Kollodiumsäckchenmethode ist mit sehr geringem Erfolg von Rodet & Guéchoff[1]) angewendet worden.

Conradi[2]) erhielt Typhusgift durch aseptische Autolyse der Bazillen, indem er dieselben in 0,8 proz. Na Cl aufschwemmte und höchstens 48 St. in den Brutschrank stellte. Er gewann auf diese Weise ein gelöstes, zellfreies Gift, das in einer Dosis von 0,2 cm^3 ein Meerschweinchen in 24 St. tötete.

Diese Methode und auch die von Macfadyen & Rowland[3]) bieten für die zukünftige Entwicklung großes Interesse. Macfadyen zerreibt die Bakterien bei der Temperatur der flüssigen Luft und erhält so akut wirkende Gifte, die nach seiner vorläufigen Angabe auch antitoxische Immunität verleihen.

Ob nun diese löslichen Gifte echte Toxine resp. Toxoïde sind, d. h. ob sie Antitoxine im Körper bilden, ist noch zweifelhafter wie bei der Cholera. Pfeiffer & Kolle leugnen die Sekretion eines frei gelösten Toxins und die Antitoxinbildung völlig, Bitter nimmt eine geringe Antitoxinerzeugung an. Dagegen fand Chantemesse eine deutliche und energische Antitoxinproduktion nach Injektion seines Typhustoxins, speziell beim Pferde.

Wir haben also wie bei der Cholera ein sehr fest an die Bazillenleiber gebundenes Gift, das schwer herauszubringen ist. Die theoretischen Vorstellungen müssen sich also mit allem Vorbehalt denen, die wir beim Choleragift gegeben haben, nähern, dass also ein Typhusendotoxin vielleicht existiert, aber kaum frei sezerniert wird, und dass die dargestellten Gifte stark veränderte sekundäre Gifte sind.

Bacterium coli.

Angaben, dass der Colibacillus ein Toxin produziert, sind scheinbar nur die von Barba-Morrihy[4]), die mir nur in dem sehr kurzen Referat zugänglich waren, wo über die Natur des Giftes gar nichts angegeben ist; und die von Rodet, der sie gleichzeitig auch beim Typhus fand (s. dort). Nach den Angaben von Martin (l. c.) scheinen sich der

---

[1]) Rodet, A. & G. Guéchoff, Versuche, die Methode der Kollodiumsäckchen auf die Kenntnis der toxischen Produkte des Eberthschen Bacillus und des B. coli anzuwenden. Soc. Biol., 52, 962, 965 (1900).

[2]) Conradi, Ueber lösliche, durch aseptische Autolyse erhaltene Giftstoffe. D. med. Woch., 1903, Nr. 2.

[3]) Macfadyen & Rowland, An intracellular toxin of the typhoid-bacillus. Proc. Roy. Soc., 71, 77 (1902), ferner C. f. Bakt., 34, 618 (1903).

[4]) Barba-Morrihy, Baumgartens Jb., 1897, 403.

Colibacillus und ebenso der Bacillus enteritidis Gärtner in ihrer Giftproduktion ganz analog dem Typhusbacillus zu erhalten.

Aus dem Zellkörper erhielt durch Erhitzen mit 1 % H_2SO_4 Vaughan[1]) einen giftigen Stoff, der aber jedenfalls kein Toxin ist.

Ueber das Colilysin s. o.

Ruhr.

Die Methode der aseptischen Autolyse hat Conradi (l. c.) die Darstellung eines löslichen Ruhrgiftes ermöglicht.

Durch 18 stündige Autolyse erhielt er Gifte, die zu 0,1 cm^3 intravenös große Kaninchen töteten.

Es trat heftiger Durchfall ein, dann Kollaps, Lähmungen, Temperaturabfall u. s. w.

Bei chronischer Vergiftung durch kleinere Dosen traten auch Darmgeschwüre und das ganze pathologisch-anatomische Bild der Ruhr auf.

Das Pesttoxin.

Auch der Pestbacillus bildet lösliche Gifte, deren Zugehörigkeit zu den echten Toxinen noch zweifelhaft, aber wahrscheinlich ist.

Die Filtrate ganz junger Kulturen sind nach den übereinstimmenden Angaben der Deutschen Kommission[2]), Wernicke[3]), Albrecht & Ghon[4]) ohne toxische Wirkung.

Dagegen tritt bei älteren Kulturen (schon vom fünften Tage ab) Giftwirkung auf, die mit dem Alter zunimmt. Der Tod erfolgt unter Abmagerung und Degenerationserscheinungen an der Leber, sowie Herzschwäche. Am ausführlichsten hat Markl das Pesttoxin untersucht.

Markl[5]) fand zunächst auch mit Chloroform abgetötete Bazillenleiber sehr toxisch, ging dann aber dazu über, Filtrate von Bouillonkulturen zu verwenden, die sich sämtlich als giftig erwiesen.

Die Giftigkeit war besonders in alten Kulturen eine hochgradige, wenn dieselben bei niederer Temperatur gewachsen waren (ca. 20°), und nahm bis ungefähr zum zweiten Monat zu, um dann nicht mehr zu steigen, dann abzunehmen, bis schließlich das Toxin verschwindet. Sehr nötig ist reichliche Lüftung der Kulturen.

Bruttemperatur wirkt schädlich auf die Toxine.

Die Dosis letalis der wirksamsten Gifte betrug für Mäuse 0,005—0,01 cm^3; für Ratten ca. 0,1 cm^3.

---

[1]) Vaughan, The intracellular toxins of some of the pathogenic bact. Journ. Amer. med. assoc., 1903, p. 828. Bioch. Centr., I, Nr. 1056.

[2]) Bericht der deutschen Pest-Comm. Arb. Kais. Ges.-Amt, 16 (1899).

[3]) Wernicke, Ueb. Immun. Vers. b. d. Beulenpest. C. f. Bakt., 24 (1898).

[4]) Albrecht & Ghon, Bakt. Unters. üb. d. Pestbac. Wiener Akad., 66 (1898).

[5]) Markl, Beitrag z. Kenntnis der Pesttoxine. C. f. Bakt., 24, Nr. 18/20, 1898. (Litteratur). — Ders., Weit. Unters. üb. Pesttoxine. Z. f. Hyg., 37, 401 (1901).

Bei diesen Tieren verläuft die Vergiftung schnell unter Kollapserscheinungen ohne anatomischen Befund, außer fettiger Metamorphose der Leber; bei Kaninchen und Meerschweinchen verläuft sie nur bei sehr großen Dosen ähnlich, sonst mehr protrahiert, in mehreren Wochen; es bildet sich zuweilen ein Milztumor und Pigmentatrophie der Leber aus. Bei einer Katze beobachtete er neben Marasmus Ausfallen der Haare und ausgedehnte Hautnekrosen. Bei Meerschweinchen Schüttelfrost und enormes Sinken der Temperatur (25 °).

Das Gift ist sehr empfindlich. Schon bei gewöhnlicher Temperatur verlieren die Lösungen schnell an Giftwert, rascher bei hoher Sommertemperatur (25°), sofort bei 70°. Zwar bleiben die so erhitzten Filtrate für Meerschweinchen und Kaninchen in großen Dosen toxisch, doch in ganz anderer Weise, wohl durch Toxoïdbildung.

Markl hat auch versucht, das Pesttoxin zu reinigen, doch sind seine Versuche (Alkoholfällung) nicht über die allerersten Anfänge hinausgelangt. Er fand, dass es, wie alle echten Toxine, an den Eiweißstoffen hängt.

Es dürfte sich hauptsächlich um sekundäre Gifte handeln, welche in solchen alten Kulturen vorhanden sind. Sie zeigen eine wenn auch geringe Antitoxinbildung.

Auch Kossel & Overbeck[1]) konnten mit Kulturfiltraten, die auf 60° erwärmt waren, eine Immunität erzielen.

Das Pneumotoxin.

Sehr ähnlich, wie bei Cholera und Typhus, scheinen die Dinge bei dem Pneumococcus, dem Erreger der krupösen Pneumonie zu liegen.

Die ersten wichtigen Versuche, uns über das Gift dieses Diplococcus zu informieren, haben die Gebrüder Klemperer[2]) angestellt.

Sie haben zwar auch mit abgeschwächten oder getöteten Kulturen, die aber die Leiber der Kokken noch enthielten, experimentiert, um Immunität zu erzielen; sie haben aber auch keimfreie Lösungen dazu benutzt.

Dazu dienten ihnen einerseits einfache Kulturfiltrate, ferner aber auch ein eitriges Pleuraexsudat, das durch den Pneumococcus veranlasst, aber bei der Aussaat keimfrei war, sowie erhitztes pneumonisches Sputum und Glycerinextrakte von Agarkulturen, die keimfrei filtriert wurden. Sie erhielten dabei ziemlich schwach wirksame Giftstoffe, die keine spezifische Wirksamkeit ausübten; durch Erwärmen auf 60° konnten

---

1) Kossel & Overbeck, Bakter. Unters. über Pest. Arb. Kaiserl. Ges.-Amt, 18 (1901).

2) G. & F. Klemperer, Vers. über Immunisierung u. Heilung bei der Pneumokokkeninfektion. Berl. klin. Woch., 1891, Nr. 34/35. — G. Klemperer, Die Bezieh. versch. Bakteriengifte z. Immunität u. Heilnng. Z. f. klin. Med., 20, 165 (1892).

sie die Giftigkeit fast ganz beseitigen, ohne die immunisierende Kraft aufzuheben; das Serum der Versuchstiere enthielt ein spezifisches Antitoxin, das in vitro und bei vorheriger Injektion das gelöste Gift paralysierte. Toxizität und Antitoxinbildung bleiben freilich in geringen Grenzen.

Ganz ähnlich sind die fast gleichzeitigen Resultate von Foà & Carbone[1]) und Scabia[2]), die ebenfalls mit keimfreien Filtraten und mit Glycerinextrakten des pneumonischen Blutes antitoxische Immunität erzeugen konnten. Auch Belfanti[3]) erzielte mit keimfrei filtriertem Auswurf eine freilich sehr geringe Immunität.

Foà gelang es auch, durch Fällung mit Alkohol oder mit Ammonsulfat das immunisierende Prinzip abzuscheiden.

Pane[4]) fand die filtrierten Kulturen sehr schwach giftig. Washbourn[5]) giebt an, dass er mit filtrierten Kulturen ebenfalls immunisieren konnte.

Isaeff[6]) fand, dass Pneumokokken auf den gewöhnlichen Nährböden nur wenig toxische Produkte bilden, wohl aber kann durch häufige, mindestens zwölfmalige, Passagen durch Kaninchen die Toxizität beträchtlich erhöht werden. Aus dem Herzblut solcher Kaninchen erhielt er durch Zusatz von 1 % Glycerin und etwas Natriumkarbonat und Filtration durch Chamberland-Filter ein Gift, das zu 1 % des Körpergewichtes Kaninchen tötet, bei 70° stark geschwächt, bei 100° vernichtet wird. Durch Erhitzen sterilisierte Peritonealflüssigkeit solcher Tiere wirkt stark toxisch, aber nicht tödlich. Obwohl auch er durch keimfreie Filtrate etwas Immunität erzielte, giebt er doch an, dass er absolut keine antitoxische Immunität beobachten konnte, sondern ausschließlich eine antibakterielle.

Mennes[7]) erhielt Toxine, die in großen Dosen unter Fieber, Diarrhöen und Gewichtsabnahme zum Tode führten; durch Einimpfung von bei 56° geschwächten Kulturen will er eine antitoxische Immunität erzielt haben; das Serum soll in vitro das Toxin neutralisieren.

Carnot[8]) konnte durch intrapulmonale Injektion von 2—6 Tropfen Pneumotoxins eine typische krupöse Pneumonie um die Injektions-

---

1) Foà & Carbone, Sulla immunità verso il diplococco pneumonico. Gazz. med. di Torino, 1891, 1. (C. f. Bakt., X, 768.)

2) Foà & Scabia, Sulla immunità della pulmonite. Ibid., 1892, 13/15. C. f. Bakt., XI, 615.

3) Belfanti, Sulla immunisazione per mezzo di filtrati di sputo pneumonico. Rif. med., 1892, 126. C. f. Bakt., XII, 401.

4) Pane, Ueber d. Heilkraft d. antipneumon. Serums. C. f. Bakt., 21, 664 (1897).

5) Washbourn, Experiments with the pneumococcus. Journ. of path., III, 142. Baumg. Jahresb., 1895, 62.

6) Issaeff, L'immunité contre le pneumocoque. Ann. Past., VII, 259 (1893).

7) Mennes, Das Antipneumokokkenserum. Z. f. Hyg., 25, 413 (1897).

8) Carnot, Reprod. expérim. de la pneumonie fibrineuse. Soc. Biol., 51, 927 (1899).

stelle erzeugen. Carnot & Fournier[1]) konnten Pneumokokken lange lebend und virulent erhalten, wenn sie als Nährboden Blut, Serum, oder noch besser frische Gehirnsubstanz, weniger gut daraus hergestellte sterilisierte Nährböden verwendeten. Sie ließen die gebildeten Toxine sofort abdialysieren, und bekamen so toxische Dialysate, die sie durch Einengen im Vacuum oder durch Ausfällen mittelst Calciumphosphat in statu nascendi konzentrierten. Die Erscheinungen waren der Vergiftung mit lebenden Kokken ähnlich. Dieselben[2]) fanden bei ihrem Gift eine sehr intensive Wirkung auf die Muskulatur des Herzens und der Gefäße; es treten schon nach kleinen Dosen sehr intensive Entzündungen und Rupturen auf.

Nach alledem ist die Existenz eines sezernierten echten Pneumotoxins nicht sicher festgestellt.

Das Gonokokkengift.

Auch der Gonococcus erzeugt ein Gift, das sich an die Gruppe der Cholera-Typhusgifte insofern anzuschließen scheint, als es nur wenig in die Kulturflüssigkeiten übergeht, vielmehr im wesentlichen an die Zellen gebunden bleibt, und wahrscheinlich erst bei ihrem Zerfall in geringer Menge in die flüssigen Medien gelangt. Die ersten Mitteilungen über dieses Gift machte A. Wassermann[3]).

Es gelang ihm, die Gonokokken auf einem Nährboden zu züchten, der Peptone und Serumalbumin als notwendige Bestandteile enthielt, und den er unter Zusatz von 2 % Nutrose aus Schweineserum herstellte.

Während er nun konstatierte, dass der lebende Gonococcus, in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, gar keine Virulenz für die Versuchstiere besitzt, zeigte die sterilisierte Kultur eine ziemlich energische Giftwirkung, die bei intraperitonealer Einverleibung die Tiere durch Peritonitis tötete, aber auch z. B. an den Augen Hypopyonkeratitis u. s. w. erzeugte.

Das Filtrat soll sehr wenig toxisch sein. Man nimmt daher an, dass das Gift ganz analog wie bei der Cholera sich in den Leibern vorfindet.

Auch die Resistenz gegen Erhitzen, selbst zum Sieden teilt es mit den sogenannten Choleragiften.

Ganz ähnliche Befunde erhob unabhängig von Wassermann Nicolaysen[4]), der durch sterilisierte, nicht filtrierte Kulturen eine purulente Gonitis bei den Versuchstieren erzeugen konnte.

---

[1]) Carnot & Fournier, Sur le pneumocoque et ses toxines. Arch. méd. expér., 1900, 357.

[2]) Carnot & Fournier, Lésions cardiaques et musculaires par la toxine pneumon. Soc. Biol., 52, 143 (1900).

[3]) A. Wassermann, Gonokokkenkultur und Gonokokkengift. Berl. klin. Woch., 1897, 685. — Weitere Mitteilungen über do. Z. f. Hyg., 27, 298 (1898).

[4]) Nicolaysen, Zur Pathogenität und Giftigkeit der Gonokokken. C. f. Bakt., 22, 305 (1897).

Er fand die tödliche Dosis für die Maus zu 0,3 cm^3. Auch er ist der Ansicht, dass das Gift in den Leibern festsitzt. Er konnte es durch Auslaugung mittelst destilliertem Wasser oder schwacher Natronlauge nicht daraus extrahieren.

Fast gleichzeitig gelang es SCHÄFFER[1]) aus einer viertägigen, auf Ascites-Fleischwasser gezüchteten Kultur ein Gift zu gewinnen, das nach Filtration durch Porzellanfilter auf der Urethralschleimhaut heftige eitrige Entzündungen erzeugt, die schnell vorübergehen. Zu derselben Zeit hat sich CHRISTMAS[2]) mit der Frage des Gonotoxins beschäftigt. Er gewann aus 10—15 Tage alten Ascites-Bouillonkulturen durch keimfreie Filtration ein Gift, das er durch Ausfällen mit Alkohol konzentrieren konnte. Auch durch Eindampfen der Kultur mit Glycerin bei 50° gewann er ein Gift.

Es ist bei 50—70° beständig, und lässt sich im Dunklen durch 6 Monate lang aufbewahren. Es wirkt heftig toxisch auf Versuchstiere, indem es außer lokaler Entzündungserregung durch Kachexieen zum Tode führt. Auf die Urethralschleimhaut wirkt es nur beim Menschen.

CHRISTMAS[3]) hat später die Frage von neuem aufgenommen. Die lebenden Gonokokken enthalten Gift, dagegen liefern die toten Leiber bei der Mazeration bei 20° kein Gift. Er züchtete die Gonokokken auf einem Nährboden von 75 % Ascites und 25 % Bouillon. Dann filtriert er durch Talk auf Filtern oder durch Infusorienerde, da Porzellanfilter das Gift zurückhalten. Am 20. Tage ist das Maximum der Giftigkeit erreicht. Er fällt dann mit Alkohol oder Ammonsulfat. Dialysiert man darauf, so nimmt zwar die Vergiftung andere Formen an, aber die letale Dosis bleibt unverändert.

Das Gift wird bei 75—80° völlig zerstört, erträgt dagegen 60°.

Seine Wirkung ist subkutan recht schwach. Die letale Dosis ist für Meerschweinchen 5—10 cm^3. Dagegen wirkt es, intercerebral eingeführt, sehr energisch, erzeugt Krämpfe und Dyspnöe und tötet bereits in einer Dosis von 0,002 cm^3 ein Meerschweinchen in 6 Stunden.

Intercerebral wirkt es angeblich kräftig immunisierend, bis zu einer hundertfachen Giftfestigkeit, subkutan sehr viel schlechter. Diese antitoxische Immunität ist von den anderen Untersuchern völlig vermisst worden.

MOLTSCHANOFF[4]) gewann ein Toxin auf Hydrocelenflüssigkeit und Hefepeptonbouillon. Er arbeitete mit nicht filtrierten Kulturen, die er bei 70° sterilisierte. Er hat besonders die Wirkungen des Giftes auf

---

1) SCHÄFFER, Beitr. z. Frage d. Gonokokkentoxine. Fortschr. d. Med., 1897, 813.

2) CHRISTMAS, Le Gonocoque et ses toxines. Ann. Past., XI, 609 (1897).

3) CHRISTMAS, Contrib. à l'étude du Gonococcus. Ann. Past., XIV, 331 (1900).

4) MOLTSCHANOFF, Ueber das Gonokokkentoxin und seine Wirkung auf das Centralnervensystem. Münch. med. Woch., 1899, 1013.

das Zentralnervensystem untersucht, worauf ich hier nicht näher eingehen kann.

Grosz & Kraus[1]) und Scholtz[2]) leugnen überhaupt die Spezifizität des Gonotoxins, sprechen es vielmehr einfach als nicht spezifisches, citererregendes Bakterienproteïn an; zum mindesten soll die Urethritis Schäffers auch durch lebende oder tote Leiber anderer Bakterien (Pyocyaneus, Coli u. s. w.) entstehen.

Es gelten demnach für das Gonokokkengift wiederum dieselben Erwägungen. Die Existenz eines spezifischen antitoxinbildenden Gonotoxins ist nicht erwiesen.

Das Streptotoxin.

Dieselben Unklarheiten wie bei dem Gonotoxin treten uns auch bei den Stoffwechselprodukten der Streptokokken entgegen; die Existenz eines echten, antitoxinbildenden Toxins ist auch hier noch nicht zur Evidenz nachgewiesen.

Einige Autoren leugnen überhaupt jede Bildung eines spezifischen Giftes durch die Streptokokken.

Aronson[3]) fand nicht nur die sterilen Filtrate von Streptokokkenkulturen ohne toxische Wirkung, sondern er konnte auch in den durch Chloroform getöteten, sedimentierten Leibern der Kokken keine Gifte nachweisen; nur lokale Infiltrate waren das Ergebnis seiner Impfungen. Auch de Giaxa & Pane[4]) leugnen die Existenz eines Streptokokkengiftes vollkommen.

Indessen haben doch eine so große Anzahl von Untersuchern wenigstens Gifte in den Streptokokkenkulturen gefunden, dass man diese radikale Anschauung doch nicht ohne weiteres acceptieren kann.

Eins der allerersten Gifte überhaupt, das in filtrierten Kulturen sich demonstrieren ließ, fanden Manfredi & Traversa[5]) in Erysipel-Streptokokkenkulturen, am besten bei 28—30°. Sie beschreiben es als ein leicht oxydables, an der Luft bald verschwindendes Gift, das Krämpfe und Lähmungen erzeugte. Ebenfalls giftige Streptokokkenstoffwechselprodukte in filtrierten Kulturen fanden Roger[6]), Marmo-

---

1) Grosz & Kraus, Bakteriol. Studien über den Gonococcus. Arch. f. Dermatol., 49, 3 (1899).

2) Scholtz, Beitr. z. Biologie d. Gonococcus. Arch. f. Dermatol., 49, 3 (1899).

3) Aronson, Ueber Antistreptokokkenserum. Berl. klin. Woch., 1896, 717.

4) de Giaxa & Pane, Contributo alle cognizione sulla immunis. contra la infez. da streptococco. Riform. med., 12, 4, p. 5 (Baumgart. Jb., 1896, 23).

5) *Manfredi & Traversa, Sull' azione dei prodotti di cultura dello streptococco. Giorn. intern. delle scienze mediche, 1888.

6) Roger, Action des produits solubles du streptocoque d'erysipèle. Soc. Biol., 43, 538 (1891).

rek[1]), Homén[2]), Friedrich[3]), Laitinen[4]), Claude[5]), Parascandalo[6]), Schenk[7]).

Ueber die Art des Giftes aber ist noch so gut wie nichts bekannt. Roger hat sein Gift aus den Kulturen mit dem zehnfachen Volum Alkohol gefällt, dann in Kochsalzlösung wieder gelöst, und in diesem alkoholunlöslichen Präparat die typischen Allgemeinwirkungen der lebenden Kulturen wiederfinden wollen; doch war sein »Gift« sehr wenig toxisch (13—20 cm^3 pro kg Körpergewicht!), bei 104° wurde es nur sehr geschwächt, aber nicht vernichtet.

Die meisten aber haben sich einfach begnügt, die Toxizität an filtrierten Kulturen oder nach Sterilisierung bei 65—70° oder mit 0,5 % Karbol zu untersuchen.

Nur Schenk (l. c.) hat sich bemüht, durch Ausfällen mit Zinkchlorid (1 proz. Lösung) und Verarbeiten nach Brieger zu einem reineren Präparate zu gelangen.

Marmorek giebt an, dass das Toxin schon bei 58° geschwächt wird. Die Hauptfrage aber besonders, ob das so erzeugte Gift, das supponierte Toxin eine antitoxische Immunität gegen den Streptococcus bewirkt, ist noch gar nicht sicher entschieden.

Roger (l. c.) fand, dass sein Gift nicht nur keine Immunität bewirkt, sondern sogar die Empfänglichkeit gegen die Infektion erhöht.

Sieber-Schoumowa[8]) hat mit filtrierten Kulturen keine Immunität erzielen können.

Dagegen konnte Laitinen (l. c.) aus seinen Streptokokkenkulturen auf einer 5 proz. Pepton-Bouillon, die er noch mit 2 % Glycerin und 0,3 % Kochsalz versetzte, und die eine Alkalinität von 2—20 $^0/_{00}$ haben muss, duch Ammonsulfat oder Amylalkohol Toxinpräparate gewinnen, die intraperitoneal zu 0,1—0,4, in die Nerven direkt eingespritzt schon zu 0,01 große Kaninchen töteten, und die eine gewisse Immunität gegen eine Infektion gewährten.

Mit besonderem Nachdruck aber betont Parascandalo (l. c.), dass

---

[1]) Marmorek, Le streptocoque et le sérum antistreptococcique. Ann. Past., IX, 593 (1895).

[2]) Homén, De l'action du streptocoque et de ses toxines sur les nerfs. Sem. méd., 1896, 211. (Soc. Biol., 1896, 23. V.)

[3]) Friedrich, Beobacht. üb. d. Wirkung von subkutan einverleibten Streptokokken-Toxinen u. s. w. Berl. klin. Woch., 1895, 1065.

[4]) Laitinen, Das Streptokokkentoxin u. seine Wirkung auf das Nervensystem. C. f. allg. Pathol., 1896, 358.

[5]) Claude, Myelite aïgue par toxines streptocoq. Soc. Biol., 48, 122 (1896).

[6]) Parascandalo, E. neue Versuchsreihe üb. d. Serotherapie bei Infektionen mit pyogenen Mikroorg. Wiener klin. Woch., 1897, 861.

[7]) Schenk, Ueb. Streptok.-Serum und Streptok.-Toxine. Wien. klin. Woch., 1897, 937.

[8]) Sieber-Schoumowa, Les sérums thérapeutiques anticocciques. Arch. des sciences biol., IV (1896), 415.

man mit löslichen Toxinen am allerbesten gegen Streptokokken immunisieren könne.

Er züchtet sie auf Zuckerbouillon, und sterilisiert erst mit 0,5 % Karbolzusatz, um dann nach 24 Stunden durch Papier zu filtrieren. Er hatte nämlich gefunden, dass das einfache Filtrieren durch Porzellanfilter nicht alle lebenden Keime entfernt, ebensowenig das Erwärmen auf 60—70°. Erwärmt man aber höher, wird das Toxin geschädigt. Indem er erst die Filtrate junger, noch wenig toxischer Kulturen einimpfte, konnte er die Versuchstiere allmählich auch gegen große Dosen alter, sehr giftiger Kulturen immunisieren, und erhielt auch auf diese Weise ein wirksames Heilserum.

Doch sind auch seine Resultate schon deshalb zweifelhaft, weil Schenk (l. c.) fand, dass 0,5 % Karbol auch nicht hinreicht, um alle Keime zu töten. Er fand zwar die Kulturen dann steril, doch im Herzblut der vergifteten Tiere einzelne lebende Keime, so dass es sehr möglich ist, dass Parascandalo mit vereinzelten, abgeschwächten, aber doch lebenden Erregern immunisiert hat. Auch das Streptotoxin ist also bisher nicht nachgewiesen, die Dinge liegen ganz ähnlich wie beim Gonotoxin.

Die Gifte des Tuberkelbacillus.

Die giftigen Stoffe, die der Tuberkelbacillus produziert, verlangen eine gesonderte Besprechung, und zwar aus folgendem Grunde: Bei den anderen giftproduzierenden Bakterien sind die echten Toxine resp. diejenigen spezifischen Gifte, die man mit mehr oder minder großer Sicherheit als toxinähnliche zu bezeichnen in der Lage ist, einer gesonderten Besprechung zugänglich und von den nach Abzug dieser produzierten Gifte im Bazillenleib selbst zurückbleibenden sog. Bakterienproteïnen im weiteren Sinne zu scheiden. Diese scharfe Trennung ist aus historischen Gründen bei der Tuberkulose nicht angängig, denn seitdem man sich ernstlich mit den Giften des Tuberkelbacillus beschäftigt, hat man fast stets diese beiden Arten von Giften, ohne sie zu trennen, untersucht.

Die ersten Tuberkelgiftpräparate, so vor allem das Tuberkulin von R. Koch waren also Gemenge aller spezifischen und unspezifischen Giftstoffe dieses Bakteriums, und die Frage nach der Existenz eines echten Toxins wurde gar nicht geprüft. In jener Zeit war auch eine derartig präzise Fragestellung noch gar nicht möglich, da die Definition des echten Toxins und der mit ihm zusammenhängenden echten antitoxischen Immunität noch nicht in genügender Schärfe gegeben war.

Diese Giftpräparate bestehen also zum Teil aus den mehr oder weniger veränderten Stoffen des Zellleibes selbst.

Daneben enthalten sie indessen wohl noch andere Giftstoffe, die man zum Teil vielleicht als primäre Sekretionsprodukte, eventuell als echte Toxine aufzufassen hätte, zum Teil als sekundäre Produkte einfacherer Natur, die uns ebenfalls später beschäftigen werden.

Hier soll zunächst die Frage geprüft werden, ob es ein echtes Tuberkulosetoxin giebt.

Bis auf die jüngste Zeit waren es eigentlich nur die von MARAGLIANO[1]) dargestellten Präparate, die nach dieser Richtung Prüfung fanden. Er erhielt durch keimfreie Filtration von frischen bei Zimmertemperatur gewachsenen Kulturen eine giftige Bouillon, die in großen Dosen unter Hypothermie und Schweißerregung durch Kollaps tötete. Bei 100° wird das Gift zerstört. In analoger Weise erhielt BERNHEIM[2]) ähnliche geringfügige Resultate in durch KITASATO-Filter filtrierten Kulturen.

MARAGLIANO und seine Schüler erhielten auch Heilsera und Antitoxine gegen die Tuberkulose, doch nimmt er selbst an, dass das Antitoxin nicht direkt auf das »Toxin« neutralisierend wirkt, sondern nur als Stimulans anderer Heilkräfte, womit sein »Antitoxin« für uns jedes Interesse verliert.

Diese Versuche schienen von großer Wichtigkeit und wurden namentlich ihre Resultate in therapeutischer Beziehung sehr eingehend geprüft, ohne dass man wesentlichen Erfolg davon gesehen hätte. Aber die Toxinfrage selbst wurde wenig dadurch gefördert.

Außerdem fanden LEDOUX & LEBARD[3]) in ihren Kulturen nach Filtration durch CHAMBERLAND-Filter zwar Stoffe, die bei intraperitonealer Einverleibung pyrogen und toxisch, zumal bei tuberkulösen Meerschweinchen, wirkten, jedoch so schwach, dass sie die Wirkungen ausschließlich auf das Kulturmedium zurückführen wollten.

Nun liegt aus neuerer Zeit eine Arbeit von FRENKEL & BRONSTEIN[4]) vor, die sich mit dem Tuberkulosetoxin befasst. Sie züchten Tuberkelbazillen auf einer fünfprozentigen Glycerinbouillon und erhalten durch keimfreie Filtration eine Giftlösung, von der 1,5—2 cm^3 ein Meerschweinchen nach wenigen Tagen töten.

Das Gift wird durch Licht und Luft schnell geschwächt. Sie erhielten es durch Alkoholfällung in konzentriertem Zustande.

Durch Impfung mit diesem Gift wollen sie eine Immunität erzielt haben, und zwar wieder gegen alle Tuberkelgifte, auch gegen die Proteïne.

Gegen die Ergebnisse dieser Arbeiten macht vor allem der Umstand skeptisch, dass die Filtrate der Kulturen so wenig giftig wirken. Im wesentlichen hatten die Autoren doch nichts weiteres, als das Tuber-

---

1) MARAGLIANO, Heilung d. Lungentuberkulose durch Heilserumtherapie. Berl. klin. Woch., 1895, 689. — Ders., Ueber das tuberkulöse Heilserum u. seine Antitoxine. Ebd., 1896, 773. — Ders., Ueb. d. Tuberkelantitoxin. Malys Jb., 1900, 1044.

2) BERNHEIM, Immun. tuberc. et sérumthérapie. Soc. Biol., 48, 291 (1896).

3) LEDOUX & LEBARD, De l'action sur la tempér. du bouillon des cultures tuberc. Arch. d. méd. expér., X, 601 (1898).

4) FRENKEL & BRONSTEIN, Ueber Tuberkulosetoxin und Antitoxine. Berl. klin. Woch., 1901, 861.

kulin vor sich, das aber ziemlich giftig ist bei gleicher Anwendungsweise. Keiner der Autoren hat geprüft, ob man ein spezifisches Toxin vor sich hat, das im Organismus ein Antitoxin erzeugt, und zwar nur gegen das Toxin selbst. Eine antitoxische Immunität gegen die Proteïne ist a priori kaum denkbar, kann aber jedenfalls nicht durch das supponierte echte Toxin erzeugt werden, und gerade diese Omnipotenz der »Antikörper« dieser Heilsera macht gegen die Richtigkeit der Befunde überhaupt die schwersten Zweifel rege. Es ist zweifellos durch diese Arbeiten die Existenz eines echten haptophoren Toxins des Tuberkelbacillus nicht erwiesen.

Im Gegenteil gewinnt es immer mehr den Anschein, als ob die Tuberkelbazillen ein wahrhaftes echtes Toxin im Sinne unserer Definition überhaupt nicht erzeugen. Infolgedessen können wir das Thema der Tuberkelgifte trotz seiner an sich sehr großen Wichtigkeit an dieser Stelle nur sehr kurz behandeln.

Das Tuberkulin.

Unter diesem Namen fasst man Präparate verschiedener Art zusammen, deren gemeinsame Eigentümlichkeit es ist, dass sie aus Kulturen der Tuberkelbazillen gewonnen sind, und deren Leibessubstanz in wenig verändertem Zustande enthalten.

Diese Stoffe sind wahrscheinlich zum größten Teil keine echten Toxine. Es sind nach der Art ihrer Darstellung hitzebeständige Eiweißstoffe, den Albumosen sehr nahestehend, die vielleicht eine irgendwie spezifische physiologische Wirksamkeit besitzen. Ihre chemische Natur und ihre Beziehungen zu den Albumosen sind eingehend von Kühne[1]) untersucht worden. Für den gesunden Organismus sind sie sehr wenig toxisch; dagegen erzeugen sie beträchtliche Reaktionen im tuberkulös erkrankten.

Das alte Tuberkulin von Robert Koch wird hergestellt aus einer Kultur von Tuberkelbazillen bei möglichstem Luftzutritt und 38°, (Oberflächenkultur), auf 4proz. Glycerinbouillon, die nach 6—8 Wochen auf $^1/_{10}$ ihres Volums eingedampft, und durch Thonfilter filtriert wird. Der so hergestellte 40 % Glycerin enthaltende Extrakt ist sehr beständig.

Auf eine weitere Reinigung hat Koch nach vielen fruchtlosen Versuchen verzichtet. Sein Verfahren ist mannigfach modifiziert worden. Nocard[3]) erhitzte die Kulturen erst auf 110°, um sie dann in derselben Weise weiter zu behandeln; er begnügt sich mit Papierfiltration, da seine Präparate naturgemäß

---

[1]) Kühne, Erfahrungen über Albumosen u. Peptone. Z. f. Biol., 29, 24 (1892), 30, 220 (1894).

[2]) R. Koch, Mitt. über ein Heilmittel gegen Tuberk. Deutsche med. Woch., 1891, 101, 1189.

[3]) Nocard, Des injections revélatrices de la tuberculine. Recueuil de méd. véter., 72, 369. Baumg. Jb., 1895, 705.

schon steril sind. Maragliano[1]) und nach ihm Frenkel & Bronstein (l. c.) benutzten Kochen mit Wasser, eventuell im Autoklaven, zur Darstellung ihrer dem Tuberkulin sehr ähnlichen Präparate.

Behring[2]) hat aus dem Tuberkulin durch Sodalösung einen mucinähnlichen Stoff, durch Aether Fette extrahiert; dadurch hat er angeblich ein etwa 20mal giftigeres Präparat erhalten.

Auch Niemann[3]) hat sich, freilich ohne besonderen Erfolg, bemüht, hochwertige Tuberkulinpräparate durch Alkoholfällung zu gewinnen.

Ueber den Giftwert dieser Präparate haben außer diesen Autoren noch Gramatschikoff[4]) gearbeitet, der das Tuberkulin als Blutgift nachweist, und v. Lingelsheim[5]), der vorschlägt, durch intercerebrale Injektionen eine Normaleinheit der Giftwirkung zu erzielen.

Carrière[6]) hat nach Tuberkulininjektion ziemlich wesentliche Veränderungen der Leber und der Nieren gefunden.

E P ER[7]) fand es bei Nichttuberkulösen zwar erheblich pyrogen, aber nur schwach toxisch. Selbst Dosen von 0,01 g erzeugten nur unbedeutende Symptome, wie Kopfschmerzen, Gliederschmerzen u. s. w.

Auf eine neue Basis wurden alle diese Versuche dadurch gestellt, dass man davon absah, aus den Tuberkelbazillen in unveränderter Form Giftstoffe zu extrahieren, vielmehr dazu überging, die Bazillen selbst zu verarbeiten.

Koch[8]) ging von der Beobachtung aus, dass abgestorbene Tuberkelbazillen sehr lange im Körper unzerstört bleiben, und infolgedessen nicht resorbiert werden. Solange sie aber ihre Form behalten, ist nach Koch eine Immunität gegen die Bazillen nicht zu erzielen; erst bei ihrem Zerfall tritt, aber für eine heilsame Wirkung zu spät, eine geringe bakterieide Immunität ein. Koch versuchte nun durch Zermalmen der Bazillen und Einverleibung der Emulsion ihrer Zellbestandteile dem Ziele näher zu kommen. Zu diesem Zwecke trocknete er erst die Bazillen scharf und zermalmte sie dann mechanisch. Diese Massen werden in destilliertem Wasser aufgeschwemmt und mehrfach centrifugiert. Das erste Centrifugat ist in Glycerin löslich, zwar ungiftig, aber auch ohne

---

[1]) Maragliano, Extrait aqueux des bacilles de la tuberc. Soc. Biol., 50, 94 (1898).

[2]) Behring, Bekämpfung der Tuberkulose. Münch. med. Woch., 1898, 580.

[3]) Niemann, Ueber Tuberkuloseheilserum. Münch. med. Woch., 1897, 59.

[4]) Gramatschikoff, Ueber einige physiolog. Wirk. des Kochschen Tuberkulins. Arb. patholog. Inst. Tübingen, I, 287. Baumg. Jahrb., 1897, 548.

[5]) v. Lingelsheim, Ueber die Wertbestimmung der Tbc.-Giftpräparate. Dtsch. med. Woch., 1898, 583.

[6]) Carrière, Étude expér. des altérations histolog. du foie etc. Arch. méd. expér., IX, 65 (1891).

[7]) Peiper, Ueber die Wirkung des Kochschen Mittels auf Gesunde. Deutsche med. Woch., 1891, 160.

[8]) R. Koch, Ueb. neue Tuberkulinpräparate. Deutsche med. Woch., 1897, 209.

Immunisierungswert (TO). Erst die zweiten und folgenden Centrifugate enthalten die spezifisch wirksame Substanz. Diese Präparate bezeichnet KOCH als TR. Sie sollen ohne besondere Toxizität, insbesondere ohne Abszess- und Infiltratbildung immunisierend und heilend wirken. Man soll junge Kulturen verwenden, im Vacuum trocknen, und möglichst die Präparate vor Licht schützen.

H. BUCHNER[1]) hat dann selbst und mit HAHN[2]) mit Hilfe der Methode von E. BUCHNER durch Anwendung gewaltiger Drucke aus den Bazillen Presssäfte isoliert, »Plasmine«, mit denen er spezifische Wirkungen erzielen wollte, obwohl er selbst die Frage noch nicht für abgeschlossen erklärte.

BEHRING[3]) erwähnt ein aus zerkleinerten entfetteten Bakterien durch Glycerinwasser bei 150° gewonnenes Gift, von dem 1 g 1250 Mäuse töten soll. Es wird durch das Serum einer geheilten tuberkulösen Kuh neutralisiert (Antitoxinbildung?).

LANDMANN[4]) will ein wirksames Tuberkelgift, das in einer Dosis von 0,1 ein Meerschweinchen von 250 g tötet, in seinem »Tuberkulol« gefunden haben.

Er mazeriert Tuberkelbazillen längere Zeit bei 40° mit physiologischer Kochsalzlösung, destilliertem Wasser und Glycerin; dann dekantiert er die Flüssigkeit ab und behandelt die Bazillen in derselben Weise nacheinander bei 50°, 60° u. s. w. bis 100°. Dann vereinigt er sämtliche Flüssigkeiten, auch die Kulturflüssigkeit, dampft sie (37°) im Vacuum ein und filtriert durch Thonzellen. Auf diese Weise erhält er ein Gemisch sämtlicher Produkte des Tuberkelbacillus, sowohl eventuelle wärmelabile Toxine, wie die Heißwasserextrakte mit den Proteïnen. Damit will er nun therapeutische Effekte erzielt haben.

Zur Förderung unserer theoretischen Kenntnisse können diese Gemische natürlich nicht dienen.

In einer späteren Arbeit hat dann KOCH[5]) ein neues Verfahren zur Darstellung von Tuberkulinpräparaten angegeben.

Er verreibt 0,1 g staubtrockene Tuberkelbazillen im Achatmörser mit einer Lösung von 0,5 Karbolsäure und 0,85 NaCl in 100 Wasser, erst mit wenigen Tropfen, dann mit Zusatz von mehr Flüssigkeit, bis zu 100 cm^3. Dann wird 6 Minuten centrifugiert, vom Bodensatz abgegossen und mit der zehnfachen

---

[1]) H. BUCHNER, Zu R. KOCHS Mitt. über neue Tuberkulinpräparate. Berl. klin. Woch., 1897, 322. — Ders., Die Bedeutung d. aktiven lösl. Zellprodukte u. s. w. Münch. med. Woch., 1897, 12.

[2]) HAHN, Immunis. u. Heilungsvers. mit den plasmat. Zellsäften. Münch. med. Woch., 1897, 1344.

[3]) BEHRING, Autoreferat über den Vortrag in Madrid. Deutsche med. Woch., 1898, 293.

[4]) LANDMANN, Ueb. eine neue Meth. der Tuberkulosetoxin-Behandlung. Hyg. Rundschau, X, Nr. 8. C. f. Bakt., 27, 870 (1900).

[5]) KOCH, Ueb. d. Agglutinat. d. Tuberkelbazillen. D. med. Woch., 1901, 829.

Menge der Lösung verdünnt, so dass schließlich die Flüssigkeit in einem Liter das Extrakt von 0,1 g Tuberkelbazillen enthält.

Diese Flüssigkeit wird durch Zusatz von agglutinierendem Serum getrübt. Sie dient an sich nur diagnostischen Zwecken.

Von RUPPEL[1]) ist die Frage nach der Natur der Gifte des Tuberkelbacillus genau untersucht worden. Er fand zunächst die Filtrate absolut unspezifisch, konnte außer Albumosen, hauptsächlich Deuteroalbumose, nichts Toxisches in ihnen auffinden. Ebenso gelang es ihm nicht, aus den unveränderten Bazillen durch Extraktion irgend ein spezifisches Gift zu isolieren. Damit ist eigentlich die Frage nach einem löslichen, spezifischen Toxin nach der Art des Diphtherietoxins definitiv als negativ entschieden.

Dagegen hat er aus den zermalmten Bazillen einerseits eine Nukleïnsäure mit 9,42% Phosphor, die Tuberkulinsäure, und andererseits ein Protamin, das er durch Fällen mit Pikrinsäure als solches erkannt hat, als giftigen Stoff isoliert, dem er den Namen Tuberkulosamin gab. Von zerkleinerten Bazillen lösten sich beim Centrifugieren 50%; die Lösung gab keine Eiweißreaktion und enthielt augenscheinlich nur eine Verbindung der Nukleïnsäure mit dem Protamin. Nach NEUFELD[2]) ist aber die Tuberkulosaminwirkung durchaus unspezifisch, und die v. LINGELSHEIMsche Methode der Wertbestimmung (s. o.) unbrauchbar.

RUPPEL & KITISHIMA[3]) haben die Tuberkulinsäure näher untersucht. Sie ist 3½—4mal so giftig als trockenes Alttuberkulin. Intercerebral ist sie sehr viel giftiger, besonders für tuberkulöse Meerschweinchen (1 g tötet 40000 kg). Andere Nukleïnsäuren sind weniger giftig. Stellt man die Tuberkulinsäure nach der älteren, etwas eingreifenderen Methode KOSSELS her, so ist sie 5mal weniger giftig. RUPPEL & KITISHIMA haben dann aus Tuberkulinsäure weiterhin nach der KOSSELschen Methode eine der Thyminsäure ähnliche Substanz, die Tuberkulothyminsäure, abgespalten, »die in 1 g so viel spezifisches Gift für tuberkulöse Individuen enthält wie 20 cm³ KOCHsches Tuberkulin« (BEHRING), sowie einen noch einfacheren Giftstoff bisher unbekannter Natur, das Tuberkulosin, das in 1 g 25—30 cm³ KOCHschen Tuberkulins entspricht.

Nach BEHRING soll dies der »Giftkern« sein, um den sich dann irgendwie andere Stoffe gruppieren, und ohne den ein Gift mit der spezifischen Tuberkulinwirkung nicht existieren kann.

So wichtig diese Arbeiten für die Giftwirkung der Tuberkelbazillen sind, so können sie uns doch hier weniger beschäftigen, da es sich bei

---

[1]) RUPPEL, Zur Chemie der Tuberkelbazillen. Z. f. phys. Ch., 26, 218 (1898).

[2]) NEUFELD, Zur Wertbestimmung der Tuberkulosegiftpräparate. Deutsche med. Woch., 1899, 13.

[3]) BEHRING, Die Diphtherie. Berlin 1901, S. 91. — S. a. BEHRING, Ueber die spez. giftigen Eigensch. d. Tuberkulinsäure. Berl. klin. Woch., 1899, 537.

diesen durch eingreifende chemische Methoden gewonnenen Stoffen zweifellos nicht um echte Toxine handeln kann.

Infolgedessen sind Vergleiche dieser Gifte mit dem Diphtheriegift um so weniger zu ziehen, als diese Stoffe, für den gesunden Organismus wenigstens, relativ wenig giftig sind.

Eine Antitoxinbildung findet bei diesen Giften niemals statt.

Das Tuberkulin ist für den gesunden Organismus überhaupt wenig toxisch, und diese Toxizität kann unbeschadet der spezifischen Wirksamkeit durch Reinigungsprozesse noch vermindert werden.

Andererseits hat man mehrfach (RÖMER[1], BUCHNER[2] u. a.) die Wirksamkeit des Tuberkulins in toxischer Beziehung als nicht spezifisch nachgewiesen. Man konnte diese pyrogenen und lokal entzündungserregenden Wirkungen auch mit den auf analoge Weise dargestellten Proteïnen anderer Mikroben (Pyocyaneus, Prodigiosus, Pneumobacillus) in derselben Qualität und Quantität erzeugen.

An eine spezifische toxische Wirkung der alten Tuberkulinpräparate ist also kaum zu denken.

Ihre spezifische schützende Wirksamkeit ist also auch wohl kaum auf antitoxische Prozesse zurückzuführen. Es scheint sich vielmehr um Auslösung spezifisch bactericider Schutzkräfte durch diese spezifischen Eiweißkörper zu handeln, sei es in dem Sinne, dass durch diese Behandlung ähnliche Stoffe frei werden und angewendet werden können, wie sie die spezifisch bakteriolytischen Vorgänge bei der Cholera u. s. w. auslösen, also die Rezeptoren der Bakterien, die auf die Zwischenkörper im Sinne EHRLICHS eingestellt sind; oder aber es handelt sich um spezifische Eiweißkörper, eingestellt auf die Präzipitine resp. Agglutinine, die auf die Bazillen wirken, und im erkrankten Organismus spezifische Reaktionen schützender resp. heilender Art auslösen könnten. Dass im Serum Tuberkulöser spezifische Agglutinine sich finden, ist ja durch ARLOING & COURMONT bekannt geworden und neuerdings von KOCH auf anderem Wege bestätigt worden (s. o.). Es wäre also denkbar, dass hier durch aus den Bazillen herausextrahierte Stoffe ähnliche bakteriolytische Vorgänge ausgelöst werden konnten, wie sie bei Cholera, Typhus, Rinderpest u. s. w. durch ganze Bakterien hervorgerufen werden. Bei diesen Immunisierungsmaßnahmen hat man bisher keine rechte Veranlassung gehabt, von der Einimpfung unzerkleinerter Mikroben Abstand zu nehmen, da diese zarten Gebilde leicht resorbiert werden und bei ihrem Zerfall im Organismus die heilungbringenden Immunisierungsvorgänge auslösen. Und die einzigen Versuche, bei der Cholera mit »Plasminen« zu immunisieren (HAHN l. c.), sprechen auch

---

[1]) RÖMER, Ueb. d. formativen Reiz d. Proteïne BUCHNERS. Berl. klin. Woch., 1891, 886. — Tuberkulinreaktion d. Bazillenextrakte. Wien. klin. Woch., 1891, 835.

[2]) BUCHNER, Tuberkulinreakt. d. Proteïne nicht spezifischer Bakt. Münch. med. Woch., 1891, 841.

dafür, dass hier nicht antitoxische, sondern bactericide Phänomene eine ausschlaggebende Rolle spielen. Die derben, durch eine dichte Hülle von fettähnlichen Substanzen (s. b. RUPPEL l. c.) geschützten Tuberkelbazillen dagegen werden, wie KOCH zeigte, gar nicht oder sehr schwer im Organismus angegriffen, können also auch keine baktericiden Immunisierungsvorgänge auslösen. Dass aber andererseits bei ihrem schließlichen Zerfall geringe Erscheinungen baktericider Immunität eintreten, hat, wie wir oben bemerkten, KOCH gezeigt. Es scheint nun, als ob durch eingreifende Maßnahmen, besonders die mechanische Zermalmung der Bazillen und Einführung der daraus gewonnenen Extrakte, Stoffe frei werden, die schneller zur Ausbildung einer antibakteriellen Immunität führen. Noch wirksamer ist das Zermalmen der Bazillen und das Auspressen ihres Zellinhaltes, bei dem dann in noch reichlicherer Menge jene spezifischen Rezeptoren frei werden, um ihre spezifischen Reaktionen im Organismus zu entfalten. Diese Zwischenkörper sind ja wärmebeständig, können also wohl hohe Temperaturen aushalten, bei denen ein echtes Toxin, das also antitoxische Immunität auslöst, sicher zerstört werden würde.

Wenn wir diese Annahme machen, so hätte die spezifische Tuberkulinwirkung beim tuberkulösen Menschen als eine Reaktion baktericider Natur mit der toxisch-pyrogenen beim gesunden Menschen nichts zu schaffen; diese giftigen Prinzipien wären nur störende Beimengungen, und wir sehen ja auch in der That, dass KOCH und andere mit Erfolg bemüht waren, ein fast atoxisches und doch spezifisch wirksames Tuberkulin darzustellen. Auch die neuesten Arbeiten von KOCH (l. c.), aus denen hervorgeht, dass das Serum Tuberkulöser mit seinem neuen Tuberkulinpräparat einen Niederschlag giebt, scheinen diese Annahme spezifisch wirksamer Eiweißstoffe und ihrer Präzipitine zu unterstützen. Mit dieser Annahme, dass es freigewordene spezifische Ambozeptoren sind, die die Tuberkulinwirkung in ihrer neuesten Form bedingen, sind die Probleme wesentlich geklärt und vereinfacht. Das Tuberkulin scheidet, wie BUCHNER es will, aus der Reihe der spezifischen Bakteriengifte aus und bleibt doch als spezifisches Heil- und Immunisierungsmittel zu Recht bestehen, so gut wie jene toten Zellleiber, die die antibakterielle Immunität bei Cholera u. s. w. veranlassen.

Daneben muss natürlich die Frage nach den Tuberkelgiften weiter verfolgt werden. Es ist mit dieser Annahme über die Tuberkulinwirkung dafür noch gar nichts vorweggenommen; es kann sogar nebenher, wie bei den anderen Bakterien, ein echtes Toxin existieren, das auch spezifische antitoxische Immunität auslöst.

Dass ein solches Toxin bisher nicht aufgefunden worden ist, liegt vielleicht an der Methode; es ist aber andererseits, wie bereits oben erwähnt, nicht unwahrscheinlich, dass die Tuberkelbazillen ein echtes

Toxin überhaupt nicht produzieren. Sie bilden vielleicht zwar nicht toxinartige, aber doch spezifische Gifte anderer Natur.

Darauf weisen ja die Resultate der BEHRINGschen Schule über die Erzeugung sehr toxischer Tuberkelgifte hin, und dafür ist auch als schätzenswertes Material die Auffindung des Tuberkulosamin resp. seiner Verbindung mit der Nukleïnsäure zu acceptieren, obwohl hier sicherlich nicht die spezifischen Gifte des Tuberkelbacillus vorliegen. Denn RUPPEL nimmt selbst an, dass wir hier Abkömmlinge des Zellkernes vor uns haben. Diese sind sicher nicht die spezifischen Bakteriengifte, die wir doch als protoplasmatische resp. paraplasmatische Produkte aufzufassen haben. Es ist nicht unwahrscheinlich, dass man ganz analoge Substanzen auch aus den Zellkernen resp. Leibern anderer Bakterien wird auffinden können.

Dagegen kann man als die spezifischen Gifte die Produkte von AUCLAIR[1]) nicht anerkennen, der durch Aetherextrakt der Kulturen ein Gift erhalten haben will, das intratracheal eingeführt käsige Degeneration der Lungen; durch Chloroformextrakt ein zweites, das fibröse Pneumonie erzeugen soll.

So muss man denn leider konstatieren, dass die Frage nach einem spezifischen Tuberkelgift noch nicht entschieden ist, selbst dann, wenn man die Tuberkulinwirkung im oben angedeuteten Sinne ganz von dieser Diskussion ausschließt.

Das Malleïn.

Das Malleïn enhält in ähnlicher Weise die Zellbestandteile der Rotzbazillen, wie das alte Tuberkulin die der Tuberkelbazillen. Die Malleïnfrage ist fast ausschließlich von Tierärzten zu praktischen Zwecken bearbeitet worden, so dass wissenschaftlich für eine Erkenntnis des Wesens des Malleïns so gut wie nichts bekannt ist. Bis auf weiteres wird man wohl gut thun, für das Malleïn ähnliche Erwägungen gelten zu lassen, wie für das alte Tuberkulin.

HELMAN[2]) stellte zuerst im Jahre 1890 ein Extrakt aus Rotzkulturen her, nach ihm KALNING, der die Reinkulturen im Autoklaven mehrfach mit Wasser kochte und durch CHAMBERLAND-Kerzen filtrierte. PREUSSE und nach ihm PREISZ verwendeten Glycerinextrakte von Kartoffelkulturen.

JOHNE & PEARSON verwandten zuerst Bouillon als Kulturmedium, indem sie 14tägige Kulturen bei 37° filtrierten, dann sterilisierten; oder erst bei 80° eindampften und dann filtrierten (PEARSON).

ROUX sterilisierte sehr virulente Bouillonkulturen bei 110°, dampfte ein und filtrierte.

---

1) AUCLAIR, La Sclérose pulmonaire etc. Arch. de méd. expér., 1900, 189. — S. a. Baumg. Jahr., 1898, 475, 476.

2) Ich schöpfe alle diese mir im Original kaum zugänglichen Angaben aus der Arbeit von FOTH, Das Malleïn u. s. w. Fortschr. d. Med., 1895, 637.

Ganz ähnlich verfuhr FOTH (l. c.). Er lässt Rotzbazillen mehrfach durch Tiere passieren, um ihnen höchste Virulenz zu verleihen. Er züchtete sie 20 Tage als Oberflächenkultur auf 4,5 proz. LÖFFLERscher Fleischbrühe; dann wurde bei 80° auf $^1/_{10}$ eingedampft und filtriert. Durch Fällen mit dem 30fachen Volumen Alkohol erhielt er einen weißen Niederschlag, der sich im Vacuum über Chlorcalcium zu einer nicht hygroskopischen weißen Masse trocknen ließ.

GUINARD[1]) hat die toxische Wirkung des Malleïns genauer studiert. Er findet, dass nach vorangehender Anregung des Herzens die Herzkraft sinkt, und dass ebenso die nervösen Organe erst gereizt, dann gehemmt werden. Ferner beobachtete er Schweißabsonderung.

SCHATTENFROH[2]) hält andererseits das *Malleïn* für durchaus unspezifisch wirkend.

Die Frage nach einer *spezifisch* toxischen Wirkung des Malleïns ist ebensowenig entschieden, wie die des Tuberkulins. Es handelt sich möglicherweise auch hier ausschließlich um nichtspezifische Symptome, wie sie die körperfremden Proteïne stets hervorbringen.

Das Milzbrandgift.

Die Frage nach der Existenz eines echten Milzbrandtoxins ist auch noch durchaus nicht gelöst. Wie überall, so wird auch die Beantwortung dieser Frage außerordentlich erschwert dadurch, dass vielen Untersuchern es nur darauf ankam, gegen den Milzbrandbacillus zu *immunisieren*, gleichviel auf welchem Wege, dass sie also mit lebenden Bazillen resp. Bazillenleibern arbeiteten, ohne sich um die Existenz eines etwaigen spezifischen, antitoxinbildenden Giftes zu kümmern. In der ersten Zeit konnte eine so präzise Problemstellung gar nicht erwartet werden; und auch für viele spätere Autoren überwog die *praktische* Frage der Immunisierung durchaus; sie suchten, wie auch SOBERNHEIM in seinen Arbeiten über Milzbrandimmunisierung, mit allen Mitteln nach dem ersehnten Impfschutz, ohne zu untersuchen, ob dieser Schutz auf einer wirklichen *antitoxischen* Immunität beruhe. Dieses erschwerende Moment finden wir auch bei allen anderen Untersuchungen über weniger bekannte Gifte; nirgends allerdings ist das Toxinproblem so versteckt geblieben, die Resultate so widerspruchsvoll, wie hier. Ich muss mich deshalb begnügen, die wichtigsten Arbeiten, die sich mit dem supponierten Toxin in mehr oder minder ausgesprochener Absicht beschäftigt haben, zu besprechen, wobei mir die ungemein sorgfältige Litteraturzusammenstellung bei CONRADI[3]) naturgemäß wertvolle Dienste leistete.

---

[1]) GUINARD, Effets physiolog. du malleïne. Journ. méd. vét., 46, 454. Baumg. Jb., 1895, 311.

[2]) SCHATTENFROH, Ueber die Wirkung von Bakterien-Proteïnen. Z. f. Hyg., XVIII, 456 (1894).

[3]) CONRADI, Z. Frage d. Toxinbild. bei d. Milzbrandbakt. Z. f. Hyg., 37, 287 (1899).

Die ersten Versuche, aus Milzbrandkulturen durch Filtration Gifte zu isolieren, stellte PASTEUR[1]) mit völlig negativem Ergebnis an. Die Filtrate waren völlig indifferent, die von W. KOCH[2]) erzeugten nur Temperatursteigerung und Dyspnöe.

Die erste Angabe über eine aus Milzbrandkulturen gewonnene Substanz, die schützend wirken soll, machte WOOLDRIDGE[3]). Er züchtete Milzbrandbazillen auf einer Bouillon von Thymus oder Hodenextrakt 2—3 Tage bei 37°. Die so erhaltene Flüssigkeit wirkt nach dem Filtrieren nicht toxisch, aber immunisierend. Er machte auch ganz analoge Versuche[4]) mit einer durch Kochen sterilisierten Lösung seines Gewebsfibrinogens, die aus Hoden u. s. w. dargestellt war und nur schwach alkalisch reagieren durfte; denn in stark alkalischen Lösungen gaben die sehr lebhaft wachsenden Pilze gar kein Gift oder Immunisierungsstoff an die Lösung ab. Wohl aber enthielten die Filtrate der auf schwach alkalischen Gewebsfibrinogenlösungen wachsenden Kulturen einen immunisierenden nicht toxischen Stoff, der nur bei intravenöser Injektion schützt. Doch giebt er fast analoge Resultate an, wenn er den Versuchstieren einfach seine Lösung ohne vorherige Züchtung von Milzbrand injizierte; es soll einfach das Gewebsfibrinogen auch gegen Anthrax schützen. Dadurch wird der Gesamtwert seiner Arbeit für die Aufsuchung eines eventuellen Toxins völlig wertlos.

Ebenso ist der theoretische Hinweis von CHAUVEAU[5]), dass Milzbrandgifte in löslichem Zustand existieren müssten, da die bakteriendichte Placenta keine Bazillen durchließe und doch der Embryo milzbrandkranker Schafe immun sei, ohne Belang gewesen, besonders da in seltenen Fällen doch Anthraxbazillen die Placenta durchbrechen können.

HANKIN hat in einer Reihe von Arbeiten[6]) seine Milzbrandalbumosen als Hauptgiftprinzip hinzustellen versucht. Er züchtete Bazillen auf einer Bouillon mit $^1/_{00}$ Fleischextrakt und reichlichem Fibrinzusatz (10—50 %). Nach dem Sterilisieren wird geimpft und 8 Tage stehen gelassen. Dann wird filtriert und mit Ammonsulfat gefällt; darauf bei 42° dialysiert, im Vacuum eingedampft oder mit Alkohol gefällt. Es resultiert eine Albumose, die abgeschwächte Bakterien nicht geben sollen. Von dieser Substanz sollen nun bestimmte, sehr kleine Dosen, 1:1 Million pro Kilo bei Mäusen, sofort gegen Anthrax immunisieren, größere Dosen aber nicht, die nur toxisch, aber nicht immunisierend wirken.

---

1) PASTEUR & JOUBERT, Étude sur la maladie charbonneuse. Comptes rendus de l'académ., 84, 900 (1877).

2) W. KOCH, Milzbrand und Rauschbrand. Stuttgart 1886. Cit. n. CONRADI (l. c.).

3) WOOLDRIDGE, Note on the protection in Anthrax. Proc. Roy. Soc., 42, 312 (1887).

4) WOOLDRIDGE, Vers. ü. Schutzimpfung auf chemischem Wege. Du Bois Arch., 1888, 527.

5) CHAUVEAU, Sur le mécanisme de l'immun. Ann. Pasteur, III, 66 (1888).

6) HANKIN, On immunity produced by an albumose isolated from Anthrax cultures. Brit. med. Journ., 1889, II, 65. — Ders., On the conflict between the organism and the microbe. Ibid., 1890, II, 810. — HANKIN & WESBROOK, Albumoses et toxalbumines du bacille charbonneux. Ann. Pasteur, VI, 633 (1892).

Ebenfalls toxische Albumosen aus Anthraxkulturen und aus Organen gewannen fast zu gleicher Zeit MARTIN[1]) und BRIEGER & FRÄNKEL[2]), die eine gewisse Aehnlichkeit mit der Vergiftung durch lebende Bazillen zeigten. Doch sind die definitiven Resultate aller dieser Toxalbuminforschungen[3]) sehr gering geblieben, wie es ja mit allen Toxalbuminen schließlich ging. Die MARTINsche Albumose z. B. musste in Dosen von 0,3 g pro Maus (!) gegeben werden, um tödlich zu wirken.

Dass hier keine Toxinwirkung vorliegen kann, ist nach unseren heutigen Begriffen sicher. Die Anthraxbazillen haben natürlich die Eiweißkörper der Nährböden zersetzt und an den entstandenen Albumosen sind entweder Spuren von Gift hängen geblieben, oder die entstandenen körperfremden Eiweißkörper haben an sich schwach toxische Wirkungen, wie andere auch.

Jedenfalls konnte PETERMANN[4]) bei einer Nachprüfung der HANKINschen Arbeiten an seiner Albumose keine Spur einer toxischen oder immunisierenden Wirkung entdecken, während HANKIN & WESBROOK (l. c.) unter Angabe genauerer Versuchsbedingungen, besonders Vermeidung von Temperaturen über 20°, weiter daran festhielten und auch weiterhin zwar nicht immer, aber doch manchmal kurzdauernde Immunisierung erzielten.

Wichtig ist an der PETERMANNschen Arbeit noch der Hinweis darauf, dass Milzbrandkulturen, einfach filtriert, eine schwache und vorübergehende, aber deutliche antitoxische Immunität bewirken; das spräche für ein wirkliches Toxin, das freilich in sehr geringer Menge vorhanden sein müsste.

Ganz entsprechend sind gleichzeitige Befunde von ARLOING[5]): er ließ Milzbrandbouillonkulturen einfach abstehen, heberte dann von der verfilzten Bakterienmasse mehrfach ab und erzielte ein keimfreies Filtrat, in dem allerdings die möglicherweise sehr beträchtliche Zurückhaltung des Giftes in den sonst verwendeten Filtern ausgeschlossen war. Andererseits konnte sich aber wieder bei dem langen Stehen das Toxin sehr leicht zersetzen. Er erhielt ein Filtrat, das in großen Dosen immunisierend wirkte.

---

[1]) MARTIN, The chemical products of the growth of bacillus anthracis. Proc. Royal Soc., 22, V, 1890.

[2]) BRIEGER & FRÄNKEL, Untersuch. über Bakteriengifte. Berl. klin. Woch., 1890, 11/12.

[3]) Aehnliche Arbeiten mit ebenso spärlichen Resultaten sind auch von anderen um dieselbe Zeit gemacht worden, so von BALP & CARBONE (1891), LANDI (1891), G. KLEMPERER (1891), MALTZEW (1891); ich kann ihretwegen mich begnügen, auf CONRADI (l. c.) zu verweisen.

[4]) PETERMANN, Recherches sur l'immun. contre le charbon au moyen des albumoses extraites des cultures. Ann. Pasteur, VI, 32 (1892).

[5]) ARLOING, Sur la présence de la substance phylacogène dans les liquides du bac. anthr. Bull. médic., 1892, 1038. Cit. n. C. f. Bakt., 13, 561 (1892).

Dann liegen noch Befunde vor von SCLAVO[1]) und MARCHOUX[2]), die mit lebenden Bazillen eine Immunität erzielen, die aber, wie es scheint, mit der Toxinfrage nichts zu thun hat. Wenigstens giebt MARCHOUX an, dass sein Serum durch Phagocytose wirkt.

Ernsthaft nach dem Toxin gesucht hat dann erst wieder MARMIER[3]) der auf Pepton-Glycerinkulturen (1 Liter Wasser, 40 g Pepton 15 Na Cl, 40 Glyzerin 0,5 Na_2HSO_4 0,2 K_2HSO_4), am besten bei 20° einen Stoff erhielt, den er durch Fällen mit Ammonsulfat und Dialyse oder Extraktion mit Glycerin und Fällung mit Alkohol als pulvrige, braune Masse darstellen konnte, die weder Eiweiß- noch Alkaloïdreaktionen zeigte und keine Enzymwirkung darbot.

Es war bei 0,08 pro kg Tier toxisch, (doch nicht konstant) unter Temperatursteigerung, Diarrhöe, Abmagerung, Krämpfen, verlangsamter Atmung und Erstickung. 0,2 g pro kg wirkten unbedingt tödlich. Die Erscheinungen sind nach MARMIER denen der Infektion mit lebenden Bakterien ähnlich genug, um hier ein spezifisches Milzbrandgift anzunehmen.

Zwei Dinge sind es jedoch, die der Annahme, dass hier ein wirkliches echtes Toxin vorliegt, widerstreiten, ganz abgesehen davon, dass die tödliche Dosis doch ein wenig zu hoch für echtes Toxin ist:

Erstens bleibt nach MARMIER das Gift beim Kochen stundenlang unverändert, kann selbst 5 Min. auf 120° erhitzt werden, kann also kein echtes Toxin sein. Goldchlorid, Platinchlorid und Chlorkalk schwächen das Gift.

Zweitens aber scheint es nur sehr geringe, und nicht immer erreichbare Immunisierung zu erzielen. Jedenfalls ist es also kein etwa abgeschwächtes Toxoïd, da hier bei geringerer Toxizität eine um so energischere Immunisierung eintreten müsste.

CONRADI (l. c.) hat neuerdings nochmals die Frage geprüft, ob die Anthraxbazillen ein lösliches diffusibles Gift bilden und ist, um es vorwegzunehmen, zu einem durchaus negativen Resultat gelangt. Er geht von dem Standpunkt aus, dass grade die Mannigfaltigkeit der Nährsubstrate, die von den bisherigen Untersuchern angewendet wurden, zu den vielfach sich diametral widerstreitenden Angaben geführt habe. Infolgedessen entschloss er sich, das Milzbrandgift im Tierkörper zu suchen. Er verwandte das Peritonealexsudat und die Organextrakte (Leber und Milz) vergifteter Tiere, die er durch KITASATO-Filter resp. durch CHAMBERLAND-Kerzen keimfrei filtrierte und fand beide stets ohne jeden giftigen Effekt.

Ferner führte er Meerschweinchen virulente Bouillonkulturen in die Bauchhöhle ein, die er in keimdichte Säckchen aus den inneren Membranen

---

[1]) SCLAVO, Ueber d. Bereitung des Serums gegen den Milzbrand. C. f. Bakt., 18, 744 (1895).

[2]) MARCHOUX, Sérum anticharbonneux. Ann. Pasteur, IX, 9 (1895).

[3]) MARMIER, Sur la toxine charbonneuse. Ann. Pasteur, IX, 533 (1895).

von Schilfblättern (Phragmites communis) eingeschlossen hatte, und sah auch hier das Ausbleiben jeder Giftwirkung.

Gegen die CONRADIschen Befunde kann man zwei Einwände erheben.

Die Schilfsackversuche beweisen nur, dass kein lösliches und diffusibles Gift des Milzbrandes existiert, schließen aber das Vorhandensein eines indiffusiblen Toxins nicht aus; auch andere Haptine, z. B. einige Fermente sind nicht diffusionsfähig. Und grade die Angaben von ARLOING (s. o.), dass er in nicht filtrierten Kulturen ein Gift fand, dass aber andererseits die meisten Untersucher in filtrierten Kulturen nichts fanden, machen es nicht unwahrscheinlich, dass das Milzbrandgift leicht durch Filter und Membranen zurückgehalten werden könnte.

Wichtiger scheint mir der zweite Einwand. Grade wenn ein echtes haptophores Toxin des Milzbrandes existierte, könnte es unter Umständen in den Organen und Säften des vergifteten Körpers empfänglicher Tiere nicht wiedergefunden werden, da es von den Rezeptoren fest gebunden wird; auch Tetanusgift und Diphtheriegift kann man ja normalerweise im Blut und den Organen vergifteter Tiere nur nach Einführung großer Dosen wiederfinden.

Allerdings waren ja in den Exsudaten lebende Keime vorhanden, jedoch hatten sie ihre toxinerzeugende Kraft in ihnen erstens nicht lange entfalten können, und außerdem würden in diesen Exsudaten entstandene Toxine doch wieder in den Stoffwechsel gelangen und von den Rezeptoren gebunden werden, so dass nur sehr geringe Mengen in ihnen zurückbleiben dürften. Außerdem würden in diesem Falle die Exsudate zweifellos Antitoxine enthalten, die das Bild noch mehr trüben würden. Vielleicht aber ließen sich solche Exsudate als gleichmäßige, naturgemäße Nährböden verwenden, auf denen sich eventuell Toxine nachweisen ließen.

Jedenfalls lässt sich aus diesen Versuchen CONRADIS kein Rückschluss auf die Nichtexistenz grade eines echten Toxines ziehen. Ueberhaupt sind solche Versuche nicht geeignet, die Frage der Giftproduktion eines Bakteriums zu entscheiden; denn auch anders geartete Gifte einfacherer Natur können sehr wohl nach Ausübung ihrer Schädigungen oder grade durch ihre physiologische Aktion so verändert resp. zerstört werden, dass eine nachweisbare Quantität in den Gewebssäften nicht zurückbleibt. Selbst manche Alkaloïde, wie das Cytisin verschwinden spurlos im Organismus. Es ist nicht sicher, bei den mannigfachen Angriffen, denen ein Gift im Körper ausgesetzt ist, negative Schlüsse zu ziehen auf die Nichtexistenz dieses Giftes; hier wären nur positive Resultate beweisend. So tragen denn auch die Versuche von CONRADI nur negativ zur Entscheidung der Frage bei: wieder ein Weg zur Auffindung des hypothetischen Giftes hat sich als ungangbar erwiesen: ob es nicht doch existiert, bleibt dabei offen. Und dabei darf nicht unbeachtet bleiben, dass eigentlich das Milzbrandgift ein ätiologisches Postulat

ist; denn es giebt viele Fälle von Milzbrand mit tödlichem Ausgange, wo eine bazilläre Allgemeininfektion auszuschließen ist, wo es nur mit Mühe oder gar nicht gelingt, lebende Bazillen in den Organen zu finden. Solche Fälle kann man doch nur als Intoxikationsfälle erklären. Das Gift muss also trotz Conradi weiter gesucht werden.

Einwandfrei sind dagegen die Versuche, die Conradi angestellt hat, um zu erfahren, ob der Milzbrandbacillus etwa spezifische Endotoxine bildet, die er erst beim Absterben und Zerfallen der Zellen, analog der Hefeninvertase und Zymase bildet. Er tötete die Bazillen mit Toluol oder durch Erfrieren, oder er zermalmte sie nach der Buchnerschen Methode. In allen Fällen war das Resultat völlig negativ. Auch Toxalbumine aus den Organen konnte er weder mit Hilfe der Brieger-Fränkelschen, noch der Marmierschen Methode erhalten.

Es liegt also die Sache heute folgendermaßen:

Ein einwandsfreier Beweis für die Existenz eines echten Toxins, sei es eines freien Sekretes oder eines an die Zellen gehefteten Endotoxins, ist für den Milzbrand nicht erbracht, letzteres so gut wie ausgeschlossen. Außer geringen pyrogenen Wirkungen, die von den Bakterienproteïnen des Zellleibes selbst ausgehen, wie bei allen — pathogenen und harmlosen — Bakterien sind Milzbrandgifte nicht bekannt. Es ist wohl anzunehmen, dass sich Gifte bilden, die die Krankheitserscheinungen auslösen; doch scheinen diese so subtiler Natur zu sein, und sich bei dem fortdauernden Wachstum der Bazillen im angriffenen Körper jeweils nur in so geringer Menge zu bilden, dass sie sich dem Nachweis entziehen. Conradi hat über Immunisierung mit seinen sterilen Filtraten keine Versuche gemacht; es wäre denkbar, dass sie Toxoïde enthielten an Stelle des äußerst empfindlichen Toxins, die nicht mehr toxisch, aber immunisierend wirken und dadurch Hankins Befunde möglicherweise erklären. Lauter Fragezeichen, die einer Antwort harren.

Sonstige lösliche Bakteriengifte vielleicht toxinähnlicher Natur.

Sind schon die Forschungen nach den spezifischen Giften bei einigen der wichtigsten pathogenen Mikroben meist noch in den Anfängen, so werden wir uns nicht wundern, wenn wir über lösliche Toxine anderer weniger wichtiger Bakterien nur recht spärliche Angaben finden, die ich hier nur ganz kurz referieren will. Es ist sehr gut möglich, dass man hier bei genauerer Untersuchung noch ein oder das andere echte Toxin finden möge, doch sind sichere Anzeichen dafür bisher nicht vorhanden.

Für die Mehrzahl dieser infektiösen Mikroben, die sich im Organismus vermehren, wird wohl dasselbe gelten, was wir für Cholera, Streptokokken u. s. w. annehmen können, dass die Zellen, wenn überhaupt, echte Toxine nur in ganz geringen Mengen sezernieren, dass diese außerdem äußerst zersetzlich sind, dass dagegen die Gifte vor-

wiegend als festhaftende Endotoxine aufzufassen sind. Die Immunität wird bei allen infektiösen Mikroben ganz vorwiegend durch bakteriolytische Prozesse bewirkt, eine eventuelle Antitoxinbildung ist unbedeutend und tritt praktisch und theoretisch stark in den Hintergrund.

Hogcholera.

Metschnikoff[1]) fand wie Selander[2]) steriles Blut erkrankter Tiere sehr giftig. Gegen die Bakterien ist außerordentlich leicht zu immunisieren, doch ist dadurch die Resistenz gegen das sterile Gift nicht erhöht. Die Kokkobazillen wachsen im Immunserum, aber ihre Virulenz ist schwächer, wird aber bei Umimpfung auf frische Bouillon regeneriert. Danach scheint das Serum doch Antitoxin zu enthalten, das die Toxinproduktion des wachsenden Bakteriums neutralisiert.

Malignes Oedem.

Roux & Chamberland[3]) fanden keimfreie Kulturen des Vibrio septique schwach giftig, keimfreie Peritonealflüssigkeit stark giftig und immunisierend. Indessen erhielten sie auch bei 110—120° noch sehr schwache, etwas immunisierende »Gifte«. Auch Besson[4]) erhielt schwache Gifte in filtrierten Kulturen (5—10 cm^3 für Meerschweinchen tödlich), besonders auf Fleisch.

Rauschbrand.

Roux[5]) erhielt durch Filtration der Kulturen und aus Muskelsaft ein schwaches, nicht tödlich wirkendes, immunisierendes Gift, das aber auch teilweise noch bei 115° erhalten bleiben soll.

Duenschmann[6]) züchtete Rauschbrandbazillen auf Fleischmazeration oder Rinderserum unter Luftabschluss und erhielt nach 7 Tagen im Filtrat ein spezifisch wirkendes Gift, das in Dosen von 5—6 cm^3 Meerschweinchen tötet. Es wirkt gegen lebende Bazillen nicht schützend.

Seitdem scheint über ein eventuelles Rauschbrandtoxin nicht mehr gearbeitet worden zu sein. Auch Arloing[7]) in seinen letzten Arbeiten über Immunisierung gegen Rauschbrand erwähnt kein Wort über ein Gift desselben.

---

[1]) Metschnikoff, Zur Immunitätslehre. Congr. f. inn. Med., 1892, 282. — Etudes sur l'immunité V. Ann. Past., VI, 289 (1892).

[2]) Selander, La maladie infectieuse des porcs. Ann. Past., IV, 545 (1890).

[3]) Roux & Chamberland, Immunité contre la septicémie. Ann. Past., II, 561 (1887).

[4]) Besson, Contribut. à l'étude du vibrion séptique. Ann. Past., IX, 179 (1895).

[5]) Roux, Immunité contre le charbon symptomatique. Ann. Past., II, 49 (1888).

[6]) Duenschmann, Étude expérim. sur le charbon symptomatique. Ann. Past., VIII, 403 (1894).

[7]) Arloing, Serothérapie du charbon symptomatique. Compt. rend. Acad. d. sciences, 130, 548 (1900), 131, 319 (1900).

Schweineseuche.

Silberschmidt[1]) fand ein schwaches Gift im Filtrat der Kulturen, das spezifisch wirkt; bei 120° wird es nicht völlig zerstört, aber schon bei 60° langsam angegriffen. Die Filtrate erzeugen Immunität.

Selberg[2]) fand in Schweineseuchenbazillen wenig spezifische Giftstoffe, die an die Leiber gebunden sind.

Vibrio Metschnikoff.

Ueber diesen Vibrio liegt eine sehr interessante Arbeit von Sanarelli[3]) vor. Er wächst nach anfänglichem scheinbaren Absterben kräftig auf Immunserum, ist aber dann völlig atoxisch, erlangt jedoch seine Giftigkeit beim Umzüchten auf frische Bouillon wieder. Ebenso kann man aus dem immunen Tier heraus Vibrionen züchten. Nimmt man das vibrionenhaltige Serum infizierter Tiere und entfernt das Serum von den Vibrionen, so sind sie viel virulenter als mit dem Serum.

Daraus folgt: Der Vibrio an sich ist imstande, sich im Tierkörper zu vermehren. Er bildet dort aber Toxine, die schädlich sind. Im immunen Tier aber oder im Immunserum und auch im Serum des erkrankten Tieres sind Antitoxine, die das Gift binden, den Vibrio unschädlich machen, der sich dann im immunen Tier weiter vermehrt. Entfernt man das Antitoxin, tritt wieder Giftwirkung ein, ebenso bei Umzüchtung auf neuen Nährböden.

Sanarelli hat nur leider gar nicht versucht, das hier wahrscheinlich vorhandene Toxin durch Filtration zu finden. Er hat nur getötete Kulturen (bei 60° und bei 120°) giftig befunden, und natürlich gegen das sekundäre Gift, das er bei 120° erhielt, keinerlei antitoxische Immunität erzielen können. Das ist sicher kein Toxin, wohl aber scheint hier ein wirkliches Toxin gebildet zu werden, das man vielleicht durch vorsichtiges Arbeiten demonstrieren kann.

III. Die pflanzlichen Toxine (Phytotoxine).

Das Ricin.

In den Samen der Ricinuspflanze, Ricinus communis, ist ein außerordentlich heftiges Gift vorgebildet, das sich in jeder Weise eng an die Bakterientoxine anschließt. Es ist enthalten im Embryo und Endo-

---

1) Silberschmidt, Contrib. à l'étude de la swine plague. Ann. Past., IX, 65, (1895).

2) Selberg, Beitr. z. Kenntn. d. Giftwirkung d. Schweineseuchenbakterien u. s. w. Diss., Berlin 1896.

3) Sanarelli, Defense de l'organisme contre les microbes. Ann. Pasteur, VI, 225 (1892).

sperm, nicht in der Schale (WERNER). Ein ganz analog wirkendes Gift findet sich nach STILLMARK[1]) noch in 10 anderen Ricinusarten, nämlich sanguineus, africanus, guyanensis nanus, altissimus, communis maior, philippinensis, brasiliensis, borboniensis arboreus, spectabilis, jamaicensis. Auch die Samen von Jatropha Curcas, einer westindischen Euphorbiacee, die man als Pulgueranüsse oder Barbados seeds bezeichnet, liefern ein vielleicht mit dem Ricin identisches toxisches Produkt (STILLMARK).

Das Ricin wurde zuerst von DIXSON[2]) untersucht. Er stellte ein giftiges Präparat her, durch Extraktion der Samen entweder mit Salzsäure und Fällung mit Sodalösung, oder durch Fällung des wässrigen Auszuges mit Alkohol. In reinerem Zustande erlangte er es, indem er den Wasserauszug mit Bleiessig und Ammoniak fällte, in Wasser suspendierte, mit H_2S entbleite und dann mit Alkohol fällte. Daneben fand er im Samen noch ein ungiftiges Glukosid.

Genauer beschäftigte sich dann mit dem Ricin, dem er auch den Namen gab, STILLMARK[1]) unter Leitung RUDOLF KOBERTS. Er extrahierte den Samen mit 10proz. Kochsalzlösung, fällte dann mit Natrium- oder Magnesiumsulfat und entfernte die Salze mittelst Dialyse. Die Ausbeute betrug 2,8 % der enthülsten, lufttrocknen Samen.

CRUZ[3]) wäscht die zerriebenen Samen mit Chloroform und Alkohol, trocknet, löst in Wasser und fällt mit Alkohol.

Ein großes theoretisches Interesse gewann das Ricin, als EHRLICH[4]) es zum Ausgangspunkt seiner grundlegenden Arbeiten über die antitoxische Immunität machte. Er gewann es ebenfalls aus den Samen mit 10proz. Chlornatriumlösung und reinigte es genau wie STILLMARK. Das MERCKsche Präparat ist aus der Kochsalzlösung mit Ammonsulfat gefällt.

Chemische Natur des Ricins.

Während die älteren Untersucher das Ricin für einen Eiweißkörper hielten, scheint sich auch beim Ricin der bei den Bakterientoxinen geschilderte Entwicklungsgang zu wiederholen, dass man mit fortschreitender Genauigkeit der Untersuchungen immer mehr zu der Ueberzeugung gelangt, dass auch dieses Toxin zwar ein hochmolekularer Körper, aber kein Eiweißkörper im engeren Sinne ist.

STILLMARK hielt ihn nach der Darstellung für ein Globulin. CUSHNY[5]) hat viele mühevolle Untersuchungen angestellt, um das Ricin entweder

---

[1]) STILLMARK, Ueb. Ricin. Arb. pharm. Inst. Dorpat III, (Stuttgart, Enke), S. 59 (1889). (Dort die ganze ältere Litteratur über die Ricinuspflanze.)

[2] DIXSON, Australian Med. Gaz., 1887, 156, cit. n. CUSHNY s. u.

[3] CRUZ, La ricine. Ann. d'hygiène publique, 40, 344 (1898).

[4]) EHRLICH, Exper. Unters. über Immunität. Dtsch. med. Woch., 1891, 976, 1218. — Zur Kenntnis d. Antitoxinwirkg. Fortschr. d. Med., 1897, 41.

[5]) CUSHNY. Ueb. das Ricinusgift. Arch. exper. Pathol., 41, 439 (1898).

wirklich als Eiweißkörper zu demonstrieren oder es von den verunreinigenden Eiweißsubstanzen zu befreien, ohne dass er sichere Resultate erzielt hätte. Die Trennung des wirksamen Prinzipes von den Eiweißstoffen gelingt nach den gewöhnlichen Methoden durchaus nicht, entweder weil die Fällungs- und Wiederlösungsbedingungen die gleichen sind, oder wahrscheinlicher, weil das Ricin, wie so viele kolloïde Substanzen, von manchen fallenden Niederschlägen, besonders aber Eiweißkoagulaten u. s. w. mitgerissen wird.

Schließlich erwies sich die Resistenz des Ricins gegen Trypsin als ein Mittel, um wenigstens mit großer Wahrscheinlichkeit die Eiweißnatur von ihm abzustreifen. Von STILLMARK geleugnet, von CUSHNY und MÜLLER[1]) nachgewiesen, diente sie den schönen Versuchen von JACOBY[2]) wieder als Ausgangspunkt.

Er wies zunächst nach, dass selbst wochenlange Digestion mit Trypsin den Giftwert des Ricins unverändert lässt, ebenso mit Papaïn. Daraus allein will er nun allerdings noch keinen bindenden Schluss ziehen, da ja auch Eiweißkörper möglicherweise gegen Trypsin resistent sein könnten. In sehr eleganter Weise modifizierte er nun aber seinen Versuch.

Ricin fällt bereits aus, wenn die Lösung zu 60 % mit Ammonsulfat gesättigt ist, während das wirksame Prinzip des Trypsins erst bei voller Sättigung mit Ammonsulfat ausgeschieden wird. JACOBY entfernte nun durch fraktionierte Ammonsulfatfällung aus einem Pankreasextrakt die bei 60 % fällbaren Eiweißkörper, und mit diesem gereinigten Trypsinpräparat digerierte er Ricin, das bei einer Sättigung unter 60° gewonnen war.

Nun hatte diese Mischung vor der Einwirkung des Trypsins folgende Zusammensetzung:

bei 60 % fällbar: Ricin und die damit verbundenen Eiweißkörper,
bei 100 % fällbar: Trypsin.

Nach der Einwirkung des Verdauungsfermentes aber sieht es anders aus: die dem Ricin beigemengten Eiweißkörper werden durch das Trypsin verdaut, also jedenfalls schwerer, vielleicht gar nicht mehr durch Ammonsulfat fällbar; dann ist das Schema also:

bei 60 % fällbar: Ricin,
bei 100 % fällbar: Trypsin und ein Teil der angedauten Proteïde.

Unter diesen Bedingungen also muss die Fällung bei 60 % theoretisch ein reines Ricin ergeben.

In der That erhielt JACOBY nach fünfwöchentlicher Verdauung bei

---

1) MÜLLER, Beiträge z. Toxikol. des Ricins. Arch. exper. Pathol., 42, 302 (1899).
2) JACOBY, Ueb. d. chem. Natur des Ricins. Arch. exper. Pathol., 46, 28. S. A.

60 % nur einen sehr geringen Niederschlag, den er durch Umfällen reinigte.

Die Eiweißreaktionen waren verschwunden, die Giftigkeit quantitativ erhalten. Damit ist also der Beweis geführt, dass das reine Ricin kein Eiweißkörper ist. Es ist also wieder eines der letzten »Toxalbumine« verschwunden, und damit dürfte wohl dieser Begriff auch nur noch historisches Interesse haben. Er hat in der Entwicklung dieser Fragen seine große Bedeutung gehabt, besonders indem er zuerst darauf hinwies, dass diesen Giften ganz andere Eigenschaften zukommen, als den krystalloïden Giften; aber nun dürfte es wohl an der Zeit sein, ihm ein ehrenvolles Begräbnis zu bereiten, da er jetzt nur noch Verwirrung stiften kann. An seine Stelle soll ganz allgemein der Begriff »Toxin« in seiner präzisen Fassung treten, wie wir ihn aufgestellt, und der alle Beziehungen dieser eigenartigen Körperklasse umfasst.

Eigenschaften des Ricins.

Das Ricin zeigt, gerade wie die Bakteriengifte, eine sehr weitgehende Analogie mit den Enzymen, so dass es schon von Stillmark diesen zugeschrieben wurde, obwohl es wirkliche fermentative Prozesse (Diastase- u.s.w. Wirkung) nicht ausübt. Zu diesen Analogieen gehört die schon erwähnte Fällbarkeit durch alle möglichen Niederschläge; besonders leicht wird es durch fallende Eiweißstoffe mitgerissen. Auf ein Mitreißen, nicht aber auf eine eigenartige Reaktion des Ricins selbst, dürfte wohl auch die Fällbarkeit durch Nukleïnsäure zu beziehen sein, die Tichomiroff[1]) am Ricin, wie an anderen Toxinen, gefunden hat.

Mit den Enzymen teilt es auch seine Empfindlichkeit gegen physikalische und chemische Einflüsse.

Siedetemperatur schädigt intensiv, hebt allerdings nach Jacoby die Giftigkeit nicht ganz auf, bei dem gereinigten Gift noch weniger als bei dem mit Eiweiß vermengten. Jacoby scheint es freilich nicht für ausgeschlossen zu halten, dass beim Kochen ein qualitativ verschiedener Giftstoff entsteht, vielleicht ein Toxoïd. Gegen trockene Hitze (110°) ist es unempfindlich (Stillmark). Gegen Pepsinsalzsäure ist das toxische Prinzip fast unempfindlich (Müller).

Das Verhalten gegen Trypsin haben wir bereits besprochen; sehr interessant ist dabei die Feststellung von Jacoby, dass sein reines Ricin durch Trypsin schnell zerstört wird, dass dies dagegen nicht eintritt, wenn man zu dem verdauten Gemisch des ungereinigten Ricins neue Trypsinmengen zusetzt. Es scheinen also die Eiweißspaltungsprodukte hier eine schützende Wirkung auszuüben.

---

[1]) Tichomiroff, Ueber die Fällg. v. Toxalbuminen durch Nukleïnsäure. Z. f. physiol. Ch., 21, 90 (1895).

Hydroperoxyd wirkt auf das reine Ricin energisch, auf das ungereinigte nur schwach schädlich ein.

Alkohol löst Ricin nicht und ist unschädlich.

Das Ricin scheint absolut indiffusibel zu sein, wie schon STILLMARK feststellte.

Wirkungen des Ricins.

Das Ricin zeigt zwei der wichtigsten Eigenschaften der Toxine: die außerordentlich große Wirksamkeit und die Inkubationszeit. Dagegen ist die strenge Spezifizität nicht vorhanden; bis jetzt kennt man kein Tier, das gegen Ricin völlig immun ist: die Empfindlichkeit ist zwar nicht bei allen untersuchten Tieren die gleiche: indessen sind die Differenzen nicht größer, als man sie auch bei krystalloïden Giften beobachtet.

Die Toxizität ist eine ganz enorme. Nach EHRLICH ist subkutan 0,03 mg pro kg tödlich; 0,18 g per os würden die für den erwachsenen Menschen tödliche Dosis darstellen. 1 g würde subkutan ca. $1\frac{1}{2}$ Millionen Meerschweinchen töten, jedoch schwankt die Dosis letalis minima etwas. Mäuse sind weniger empfindlich, Kaninchen etwas mehr. Zur Messung der Toxizität bedient sich EHRLICH stets der Injektion von 1 cm^3 für 20 g Körpersubstanz; dann wäre eine Verdünnung von 1 : 200000 für Mäuse sicher tödlich.

Aehnlich fand CUSHNY die Dosis letalis zu 0,04 mg pro kg bei Kaninchen. JACOBY findet für MERCKsches Ricin 0,5 mg als Dosis letalis für 1 kg Kaninchen.

Mit den Toxinen teilt es auch die Eigenschaft vom Verdauungskanal aus viel schwächer zu wirken. Immerhin aber ist seine Wirkung auch auf diesem Wege deutlich zu erweisen; nur bedarf man hundertfach größerer Dosen (STILLMARK p. 133). Es liegt diese Eigenschaft an der viel beträchtlicheren Resistenz gegen Verdauungsfermente, die die Bakterientoxine nicht aufweisen.

Die Wirkungen des Ricins lassen sich in vier Gruppen sondern: die lokale Wirkung an der Applikationsstelle, die Allgemeinwirkung, die Wirkung auf die Conjunctiva und schließlich auf die Blutkörperchen.

Das Ricin erzeugt wie viele Bakterientoxine an der Impfstelle häufig schwere Indurationen, Entzündungen, Abszesse und Nekrosen. Ob diese pathologischen Veränderungen dem Ricin selbst oder aber Beimengungen zuzuschreiben sind, ist noch nicht sicher zu entscheiden; es spricht indessen einiges dafür, dass es vielleicht nur die mitgeführten körperfremden Eiweißstoffe sind, die diese Erscheinungen hier wie auch sonst häufig auslösen.

Die allgemeinen Veränderungen bei der Ricinvergiftung haben auch

schon die älteren Autoren, dann aber speziell FLEXNER[1]) und FRANZ MÜLLER (l. c.) untersucht.

Das erste Symptom ist eine Steigerung der Temperatur und rapide Abnahme des Körpergewichts, während sonst in den ersten 24 Stunden keine abnormen Erscheinungen zu beobachten sind.

Die Abnahme des Gewichts ist viel größer, als dass sie einfach durch den Hungerzustand zu erklären wäre. Hungernde Kaninchen verlieren in 24 Stunden nur ca. $^1/_{14}$ ihres Gesamtgewichtes, nach 48 Stunden $^1/_8$, nach 72 Stunden $^1/_7$, während Ricinkaninchen schon nach 24 Stunden $^1/_7$—$^1/_8$ ihres Gewichtes verlieren. Auch durch erhöhten Eiweißzerfall allein ist die Abnahme nicht zu erklären. Nach MÜLLER sind die Verhältnisse ganz ähnlich wie beim fiebernden Tier. Blutige Stühle und Eiweiß, manchmal auch Blut im Harn treten auf.

Nach 24—30 Stunden zeigen sich ganz plötzlich die tödlichen Vergiftungserscheinungen. Sie beginnen mit klonischen Krämpfen, Fluchtbewegungen, Abschwächung der Reflexe. Dann tritt eine schlaffe Lähmung auf; nach 15 Minuten wiederholen sich die Krämpfe und unter Dyspnöe und krankhafter Inspiration erfolgt ca. $^1/_2$ Stunde nach dem ersten Anfall der Exitus.

Die Krämpfe fehlen bisweilen. Eine Erhöhung der Dosis ändert das Bild nicht; nur die Inkubationszeit wird verkürzt.

Zum Schluss treten schwere zentrale Störungen der Medulla oblongata auf: Vasomotoren- und schließlich Respirationslähmung. Der Blutdruck sinkt erst ganz zum Schluss; dann ist das tödliche Ende nah. Auf das Herz ist Ricin ohne Einfluss.

Der Sektionsbefund ist sehr charakteristisch. Schwellung und Rötung der subkutanen Lymphdrüsen, starke Stauung im Gebiet der Bauchgefäße; starke Vergrößerung und fleckige Rötung der mesenterialen Lymphdrüsen und der PEYERschen Plaques, zahlreiche Ekchymosen im Darm, keine Ulzerationen. Milz stark geschwollen, weich. Histologisch ergeben sich charakteristische Veränderungen des Blutes, besonders starke Leukocytose, Zellzerfall im Knochenmark und nekrotische Herde in zahlreichen Organen, besonders der Leber. Thrombosen sind nicht aufzufinden. Der Herzmuskel ist meist fettig degeneriert.

CRUZ (l. c.) fand besonders schwere Veränderungen in den Nieren, doch konnte STEPANOFF[2]) es im Harn nicht auffinden. Charakteristisch sind auch die Hämorrhagieen der Nebennieren.

Der Ricintod erfolgt also in erster Linie auf Grund der zentralen Lähmungen, daneben sind aber auch lokale Reizerscheinungen des Giftes durch die Zellnekrosen evident; auch die Darmekchymosen u. s. w. sind dadurch zu erklären, da STEPANOFF[2]) die Ausscheidung des Ricins

[1]) FLEXNER, The pathology of toxalbumin intoxication. Johns Hopkins Hospital Record, 1897. S. A.

[2]) STEPANOFF, Études sur la ricine et l'antiricine. Ann. Past., X, 663 (1896).

in den Darm gezeigt hat, und Cushny (l. c.), dass bei Fröschen Ricin einen Bluterguss in den Magen hervorruft, der das Gift enthält.

Auf das isolierte Froschherz, auf den Nerven ist Ricin ohne jeden Einfluss, auf den Muskel wirkt es schwach lähmend (Stillmark).

Eine charakteristische Wirkung hat das Ricin auf die Bindehaut des Auges. Es erzeugt schwere Conjunctivitis, ähnlich der durch Abrin (s. d.) bedingten, auch häufig zu dauernden Störungen der Hornhaut führend. Auch Panophthalmitis ist nicht selten.

Die Wirkung des Ricins auf das Blut.

Das Ricin hat eine ganz eigenartige Wirkung auf die roten Blutkörperchen, die schon von Kobert und Stillmark (l. c.) beobachtet wurde. Sie ist sowohl am frischen Blut, wie an den mehrfach gewaschenen Erythrocyten erkennbar. Die Erythrocyten ballen sich unter dem Einfluss des Ricins zusammen, und sinken als zusammenhängende, flockige Masse zu Boden, dem Blutkuchen sehr ähnlich, so dass das Serum klar darübersteht.

Nach Kobert[1]) entsteht eine Verbindung des Agglutinins mit dem Arterin des Blutes; diese Verbindung ist klebrig; deshalb die Verklumpung. Die Wirkung ist sehr intensiv, noch eine 600000fache Verdünnung soll sie erkennen lassen. Jedenfalls hat diese Agglutination mit dem Hämoglobin nichts zu thun, da sie auch mit gelösten Blutkörperchen resp. dem Stroma allein vor sich geht. Im Serum scheinen Stoffe vorhanden zu sein, die einen hemmenden Einfluss auf die Ricinwirkung ausüben; wenigstens ist sie im verdünnten Blut energischer.

Diese Ricingerinnung ist von der echten Blutgerinnung ganz verschieden. Dass es etwa eine einfache Gerinnung sein könnte, ist ja schon dadurch ausgeschlossen, dass sie an defibriniertem Blute zu erkennen ist; aber auch der Vorgang an sich ist dadurch von der Gerinnung unterschieden, dass er durch Kochsalz, Kaliumnitrit und chlorsaures Kalium nicht beeinflusst wird. Die Fibringerinnung wird sogar durch Ricin verlangsamt. Auch ist das sog. Ricinfibrin, d. h. die farblos gewaschene Ricinfällung von echtem Fibrin durchaus verschieden.

Bei größeren Ricindosen folgt auf die Agglutination ein Austreten des Blutfarbstoffes, das Ricin wirkt dann also auch hämolytisch. Diese Hämolyse ist nach Jacoby nur eine gesteigerte Form der Agglutination, nicht eine besondere Wirkung.

Die agglutinierende Wirkung beschränkt sich nicht auf das Blut. Lau fand, dass Ricin auch Eiterzellen und Organzellen konglutiniert, Milch zum Gerinnen bringt, in Hühnereiweiß- und Plasmonlösungen Gerinnsel bildet, Myosinlösungen und Menschenserum dagegen nicht be-

---

[1]) Kobert, Ueber vegetabilische Blutagglutinine. Sitzungsb. d. naturf. Ges., Rostock, 25. V. 1900. S. A.

einflusst, während STILLMARK bei den Seris von Hund, Katze, Rind und Hahn einen Niederschlag durch Ricin beobachtet hat.

Die Blutkörperchen verschiedener Arten zeigen, wie bei den bakteriellen Lysinen, eine verschiedene Empfindlichkeit.

Das Blut hochimmuner Tiere, z. B. Ziegen, ist gegen Ricin noch vollständig empfindlich, eine Immunität durch Rezeptorenmangel, vergleichbar der natürlichen, tritt also nicht ein.

LAU[1]) hatte für die Blutkörperchen der Fische eine vollständige Resistenz gegen Ricin gefunden, doch zeigte FRÄNKEL[2]), dass diese nur relativ ist, dass aber bei größeren Ricindosen auch das Barbenblut (Barbus fluviatilis) agglutiniert wird. Es liegt diese Resistenz an dem Vorhandensein eines normalen Antikörpers im Fischserum. Auch Ricinantitoxin aus Ziegenserum hat schützende Wirkung. Dagegen hat umgekehrt das normale Barbenserum keine antitoxische Wirkung gegen die Ricinwirkung auf Katzenblut.

Sehr interessant ist nun die Frage, inwieweit diese Blutwirkung in vitro eine Bedeutung für das Zustandekommen der allgemeinen Ricinvergiftung hat. Die älteren Beobachter, speziell STILLMARK neigten dazu, die Hämorrhagieen und Nekrosen durch einen ähnlichen Gerinnungsvorgang innerhalb der Gefäßbahn zu erklären. Nun hat man aber einerseits Thrombosen nie gefunden; andererseits sind, wie oben gezeigt, diese Erscheinungen auch als Reizwirkungen des Giftes in loco zu deuten. Ebensowenig sprechen die zentralen Symptome etwa für eine Verstopfung der Hirnarterien.

Vor allem aber wird diese Annahme, dass die Blutwirkung des Ricins als Todesursache verantwortlich gemacht werden könnte, dadurch hinfällig, dass MÜLLER zeigen konnte, dass diese Konglutination im lebenden Blut überhaupt nicht eintritt. Ferner machte er darauf aufmerksam, dass Pepsinsalzsäure zwar die Giftwirkung nicht tangiert, die Blutwirkung aber aufhebt, was allerdings von LAU wieder geleugnet wird, andererseits aber von JACOBY (s. u.) doch zur Evidenz nachgewiesen ist.

Diese Frage ist deshalb von besonderer Wichtigkeit, weil damit ein Argument für die Entscheidung gegeben werden soll, ob das Ricin ein einheitlicher Stoff ist, oder ob man die Blutwirkung völlig von der toxischen zu trennen hat, in der Weise, dass es zwei verschiedene Bestandteile des Ricinussamens sind, die hier in verschiedener Weise wirksam sind, ein Standpunkt, der z. B. von CUSHNY und MÜLLER vertreten wird.

Indessen ist es sehr wahrscheinlich, dass diese Fragestellung keine präzise ist. Es ist nach der EHRLICHschen Theorie durchaus denkbar,

---

1) LAU, Ueb. vegetabil. Blutagglutinine. Diss. Rostock, 1901.

2) FRÄNKEL, Ueb. d. Wirkg. d. Ricins auf Fischblut. Hofm. Beitr., IV, 224 (1903).

dass das Ricin ein etwas komplizierter gebauter Receptor zweiter Ordnung ist, der zwar nur eine haptophore, aber zwei ergophore Gruppen besitzt: nämlich eine toxophore, die die Giftwirkung, und eine andere, die die Agglutination auslöst, und für die man den Terminus: »agglutinophore« Gruppe gebildet hat.

Mit dieser Annahme lässt es sich leicht vereinigen, dass diese beiden ergophoren Gruppen verschieden leicht zerstörbar sind, wie es bei der Pepsin-HCl-Verdauung thatsächlich geschieht, so dass auch dann eine Trennung in zwei Substanzen nicht nötig ist.

Andererseits ist aber doch eine größere Mannigfaltigkeit der Ricingifte nicht von der Hand zu weisen. Wie Fränkel zeigte, ist das Antitoxin des normalen Barbenserums ohne schützende Kraft einerseits gegen die Wirkung des Ricins auf Katzenblut, andererseits aber auch gegen die toxische Wirkung auf Kaninchen und auf die Barben selbst, so dass hier ein Hinweis auf ein eigenes Fischblutagglutinin und Fischgift gegeben ist.

Wir können diese Frage erst dann genauer besprechen, wenn wir die Berechtigung, die Ricinwirkung mit Hilfe der Seitenkettentheorie zu bewerten, dargethan haben.

Wie bei den echten Toxinen sind es stets vier Punkte, die die Zusammengehörigkeit zu den Haptinen in sich schließen:

Die niedrige letale Dosis, die Inkubationszeit und das abweichende toxikologische Verhalten haben wir bereits gestreift. Aber die Hauptsache ist die Antitoxinbildung im Organismus, das Auftreten einer aktiven und passiven erworbenen Immunität.

Auch in dieser Hinsicht schließt sich das Ricin vollkommen den Bakterientoxinen an. Sind es doch gerade Versuche mit Ricin, die Ehrlich zu seinen epochemachenden Arbeiten über die antitoxische Immunität geführt haben.

Ricinimmunität.

Ehrlich[1]) gelang es, weiße Mäuse und Kaninchen gegen Ricin zu immunisieren, indem er ihnen erst kleine Dosen per os gab (Kaninchen auch vom Konjunktivalsack aus), und dann, wenn eine gewisse Immunität erreicht war, durch vorsichtige Steigerung der Dosen bei subkutaner Injektion die Immunität ziemlich hoch treiben konnte, was ca. 4 Monate dauert. Nach 8 Wochen vertrugen auf diese Weise vorbehandelte Mäuse die tödliche Dosis für den Menschen. Während für Kontrolltiere 1 cm^3 per 20 g Körpergewicht bei einer Verdünnung von 1 : 200000 sicher tödlich war, konnte Ehrlich bei immunisierten Tieren auf 1 : 500, ja sogar 1 : 250 heraufgehen, so dass eine 400—800fache Immunisierung erzielt wurde. Die Erzeugung von Panophthalmitis war bei immunen

---

[1]) Ehrlich, Exper. Unters. üb. Immunität. Dtsch. med. Woch., 1891, 976, 1218. — Zur Kenntnis d. antitox. Wirkg. Fortschr. d. Med., 1897, 41.

Tieren selbst durch große Dosen nicht mehr zu bewirken, dagegen traten die lokalen Nekrosen auch bei diesen noch häufig ein.

Das Serum dieser immunisierten Tiere enthält nun ein Antiricin, welches genau wie die Bakterienantitoxine das Ricin in vitro in der Weise zu binden vermag, dass sowohl die toxische, als auch die agglutinierende Wirkung nach bestimmten zahlenmäßigen Verhältnissen aufgehoben wird. Besonders wichtig ist dabei die ebenfalls schon von Ehrlich aufgefundene Thatsache, dass die gleiche Serummenge in gleicher Weise beide Wirkungen beeinflusst. Dass auch hier eine einfache Bindung von Toxin mit Antitoxin vorliegt, dafür hat Danyscz[1]) noch den Grund angeführt, dass man aus einem neutralen Ricin-Antiricingemisch durch proteolytische Fermente das Antitoxin zerstören kann, so dass die Toxizität wieder hervortritt; Tiere, denen rein neutrale Mischung per os gegeben wird, sterben an typischer Ricinvergiftung.

Die Ehrlichschen grundlegenden Versuche sind nun in neuester Zeit von M. Jacoby[2]) in einer sehr exakten und theoretisch weittragenden Arbeit bestätigt und ausgebaut worden.

Jacoby nimmt mit Ehrlich an, dass bei der Einwirkung von Antiricin auf Ricin eine wirkliche quantitative Bindung eintritt, und dass das Antiricin aus abgestoßenen normalen Rezeptoren besteht.

Eine sehr interessante Abweichung von dem Verhalten der Bakterientoxine hat er hierbei beobachtet. Bringt man nämlich wirksames Immunserum mit Ricinlösungen zusammen, so entsteht ein deutlicher Niederschlag, ebenso wenn man gereinigte Antiricinlösungen (s. u.) verwendet. Er bleibt dagegen ebenso aus, wenn man wirksames Ricin mit normalem Serum, oder mit zerstörtem Antiricin, wie wenn man durch Kochen inaktiviertes Ricin mit Antiricin zusammenbringt.

Danyscz[1]) hat gleichzeitig diesen Niederschlag beobachtet und giebt an, dass es stets ein Optimum der Mischung giebt, wo die Fällung am stärksten ist. Auf die Schlüsse, die er daraus zieht, kommen wir unten zurück.

Wie Jacoby wohl mit Recht annimmt, ist hierbei die Bindung Ricin-Antiricin das Primäre. Der entstandene neutrale Doppelkörper ist nun aber in diesem Falle schwer löslich und bewirkt einen Niederschlag, in den nun auch, wie üblich, andere Eiweißstoffe des Serums mit hineingerissen werden; denn nur dadurch ist die Menge des Niederschlags zu erklären. Es handelt sich aber nicht etwa um eine Ausfällung der Eiweißstoffe an sich durch ein etwa entstandenes Präzipitin, die nun sekundär das Ricin-Antiricingemisch mitreißt; denn auch eiweißfreies Ricin erzeugt im Organismus ein Serum, das diese Reaktion giebt. Außerdem spricht die strenge quantitative Bindung

---

1) Danyscz, Mélanges des toxines avec les antitox. Ann. Past., XVI, 331 (1902).

2) Jacoby, Ueber Ricinimmunität. Hofm. Beitr. z. Chem. Physiol. u. Pathol., I. 51 (1901).

gegen die Auffassung, dass etwa das Ricin nur durch Adsorption bei einer Mitausfällung der Eiweißstoffe entgiftet würde, denn die auf andere Weise, z. B. durch Nukleïnsäure (s. o.) erzeugten ricinhaltigen Eiweißfällungen sind giftig, dieser Niederschlag aber nicht. Sobald dagegen etwas Ricin im Ueberschuss vorhanden war, blieb das Filtrat gerade so giftig, wie es dem Ueberschuss entsprach. Eine so quantitativ geregelte Entgiftung kann durch eine Adsorption nicht erklärt werden.

Ein scheinbar paradoxes Phänomen findet durch die Theorie eine einfache Erklärung. Es sind nämlich die gewaschenen Erythrocyten hochimmuner Tiere mindestens so empfindlich, ja scheinbar noch empfindlicher, als normale. Theoretisch ist denkbar, dass die Rezeptorenbildung sich zeitweise erschöpfen kann, so dass die Erythrocyten nur wenig oder gar keine enthalten, so dass ihre Empfindlichkeit sehr gering oder Null sein könnte; das scheint beim Aalblut (s. d.) häufig einzutreten.

Umgekehrt lässt die Theorie aber auch den Fall voraussehen, dass die Erythrocyten grade in einer sehr lebhaften Bildung von Rezeptoren begriffen sind, dass sie also mehr als die normale Zahl enthalten; und dass deshalb ihre Empfindlichkeit deutlich gesteigert ist.

Andererseits ist es selbstverständlich, und ist durch die Thatsachen bestätigt, dass die Erythrocyten immuner Tiere in ihrem natürlichen Serum durch den Gehalt dieses Serums an Antikörper ganz beträchtlich geschützt werden. Jacoby brauchte bei einem Versuch die zehnfache Menge zur maximalen Agglutination, wie bei normalem Blut.

Diese Erscheinung, dass die Haptine sich überall lieber an freie Seitenketten, als an gebundene anhaften, ist für alle Toxine beobachtet. Die freien Rezeptoren scheinen fast durchweg eine größere Avidität zu besitzen wie die an den Zellen sitzenden.

Diese Thatsache ist die Grundlage für jede »Heilung« einer Intoxikation, d. h. Zerreißung der bereits eingetretenen Bindung an die Zelle durch das Antitoxin. Dass diese Heilung bei Diphtherie und besonders beim Tetanus nur noch sehr kurze Zeit nach der Bindung möglich ist, haben wir gegebenen Ortes gezeigt; ganz ähnlich liegen auch bei den Blutgiften die Dinge, indem Madsen beim Tetanolysin (s. d.) und Jacoby beim Ricin ein Sistieren der Agglutination durch nachträglichen Zusatz von Antiricin beobachten konnte.

Trotz der geringeren Avidität bindet sich aber die haptophore Gruppe des Ricins bei Abwesenheit von freien ebenso quantitativ an die an den Erythrocyten festhaftenden Rezeptoren; gerade wie Tetanusgift vom Zentralnervensystem, so wird durch Erythrocyten das Ricin quantitativ verankert, das Gemisch wird gegenüber einer neuen Blutprobe wirkungslos.

Die agglutinierende Wirkung wird also dadurch völlig paralysiert, dass ihr Prinzip sich restlos an die Erythrocyten bindet. Man musste

nun a priori annehmen, dass in dem Fall der Einheitlichkeit des Ricins auch die toxische Wirkung solcher Mischungen aufgehoben ist. Das ist aber nicht der Fall. Müller fand die Filtrate von durch Ricin hervorgerufenen Niederschlägen zwar ohne agglutinierende Kraft, aber toxisch, wenn auch in erheblich abgeschwächtem Maße und mit nicht ganz typischem Sektionsbefund.

Diese Versuche hält Jacoby nicht für völlig einwandsfrei. Er hält es für möglich, dass in dem Ricinblutniederschlag sich noch mechanisch mitgerissenes Ricin befindet, das bei der langsamen Filtration wieder frei wird[1]). Aber auch die Versuche von Jacoby selbst, die er mit ungerinnbar gemachten, nicht filtriertem Blut anstellte, gaben das gleiche Resultat. Das Gemisch war von quantitativ gleicher Giftigkeit. Er macht sich indessen selbst den sehr wichtigen Einwand, dass auf diese Weise zwar das Gift in gebundener Form an die Gewebszellen gelangt; dass diese aber wohl die Fähigkeit besitzen können, diese Bindung zu zerreißen und zu ihrem eigenen Unheil das Gift an sich zu ziehen. Denn ebenso wie die freien Rezeptoren, so können auch die Gewebsrezeptoren eine größere Avidität zum Toxin besitzen, als die der Erythrocyten, wenngleich die ihre wieder geringer sein muss, als die der freien Rezeptoren; sonst könnte ja eine Immunität gegen die toxische Wirkung nicht zustande kommen.

Diese Ansicht wird übrigens meines Erachtens durch einen von Jacoby übersehenen Grund gestützt. Wenn wir nämlich annehmen, dass die Gewebsrezeptoren die haptophore Gruppe des Ricins leichter binden, als dies die Rezeptoren der Blutkörperchen thun, so ließe sich damit erklären, warum bei der Vergiftung mit Ricin im lebenden Tier die Bluterscheinungen gegenüber der Allgemeinwirkung so in den Hintergrund treten, eine Thatsache, die sonst kaum zu erklären ist.

Auch durch diese Versuche ist also die Frage, ob das Ricin aus zwei getrennten Körpern besteht, nicht zu entscheiden.

Jacoby hat dann in einer weiteren Arbeit[2]) die Ehrlichsche Trennungsmethode für Hämolysine derart angewendet, dass er Mischungen von Ricin mit Blutkörperchen centrifugierte. Die agglutinierende Wirkung war aus der centrifugierten Flüssigkeit stets verschwunden, dagegen schwankte der Giftgehalt zwischen 25 und 90% des ursprünglichen. Jedenfalls war das Gift nie quantitativ an die Rezeptoren der Blutkörper verankert. Die Giftwirkung war auch qualitativ unverändert.

Mit diesem vom Agglutinin befreiten Gift hat dann Jacoby Tiere immunisiert. Das erhaltene Immunserum zeigte nicht nur antitoxische,

---

[1]) l. c. S. 68. So wenigstens glaube ich den Sinn des Satzes, der etwas gar zu kurz ausgesprochen ist, verstanden zu haben.

[2]) Jacoby, Ueb. Ricinimmunität. Hofm. Beitr., II, 535 (1902).

sondern auch antiagglutinierende Wirkung, jedoch braucht das agglutininfreie Plasmagift erheblich weniger Antitoxin, als das gewöhnliche Ricin.

Genau so verhielt sich Ricin, das mit Pepsin-HCl vorbehandelt war. Auch dieses agglutininfreie Gift erzeugte ein Antitoxin gegen beide Funktionen des Ricins. Die Wirkung der Pepsin-HCl auf Ricin hatte Jacoby schon in seiner ersten Arbeit studiert. Zwar konnte er den Befund Müllers bestätigen: thatsächlich nahm die Agglutinationskraft ganz beträchtlich ab, und zwar bis auf $^1/_{60}$.

Aber es war nach wie vor die gleiche Antitoxinmenge nötig, um die stark verminderte Agglutinationswirkung, wie die unverändert gebliebene toxische Wirkung aufzuheben. 1 cm³ Antitoxin neutralisierte die an sich außerordentlich geringe agglutinierende Kraft von 5 cm³ Pepsinricin; dieselbe Menge reichte aber auch hin, um die toxische Wirkung derselben Menge, entsprechend mindestens 15 mg Ricin (30 letale Dosen) zu paralysieren. Aber auch darüber hinaus kann man noch enorme Giftmengen zusetzen, bis zu 8 cm³ Pepsinricin; die Tiere magerten zwar ab, starben aber nicht.

Man wird bei diesen Dingen lebhaft an die Verhältnisse bei Bakteriengiften, speziell Tetanus- und Diphtheriegift erinnert. Auch hier fand Ehrlich, dass man zu völlig neutralen Gemischen (L_0) viel mehr als die einfache letale Dosis zusetzen muss, um $L_†$ zu erzielen (s. die Größe D im Allg. Teil).

Noch ein sehr interessantes Ergebnis haben die Jacobyschen Versuche gezeigt. Während nämlich vor der Pepsinbehandlung 1 cm³ Antitoxin 0,26 cm³ der Ricinlösung neutralisierte, war diese Menge nach der Wirkung für 5 cm³ ausreichend. Dabei war die Giftigkeit an sich unverändert geblieben, so dass an eine Zerstörung von Ricinmolekülen in toto nicht zu denken ist.

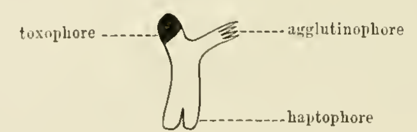
Wohl aber geht aus diesen Versuchen hervor, dass eine ganze Menge von haptophoren Gruppen verschwunden ist, die sich in dem unbehandelten Ricin an die Rezeptoren des Serums gebunden hatten, nun aber keine Ansprüche mehr an das Antiricin stellen. Diesen haptophoren Gruppen können aber toxophore nicht entsprochen haben, da die Giftwirkung unverändert geblieben ist. Wir werden also mit Notwendigkeit zu dem Schluss gedrängt, dass in dem Rohricin ungiftige, haptophore Komplexe vorhanden sein müssen. Jacoby formuliert also mit Recht seine Ansicht, dass es Ricintoxoïde giebt, die durch Pepsinsalzsäure zerstört werden. Und zwar müssen es Syn- oder Protoxoïde sein, da sie bei der Neutralisation mit abgesättigt werden.

Umgekehrt liegen die Verhältnisse bei der agglutinierenden Funktion. Hier nimmt zwar auch die Menge der haptophoren Gruppen ab, aber noch mehr die der ergophoren.

Nehmen wir nun an, dass die haptophoren Gruppen die gleichen sind, so bilden sich hier also wahrscheinlich neue, eigenartige Toxoïde, die nur noch aus haptophorer und toxophorer Gruppe bestehen, die agglutinophore dagegen verloren haben.

Und dass die haptophoren Gruppen thatsächlich identisch sind, dass das Ricin also ein einheitliches, aber kompliziert gebautes Haptin ist, dafür spricht vor allem das völlige Gleichbleiben der antitoxischen und antiagglutinierenden Wirkung nach der Pepsinbehandlung und das Ergebnis der Immunisierungsversuche mit agglutininfreiem Ricin (s. o.). Bei sicher verschiedenen Haptinen, wie z. B. Tetanospasmin und Tetanolysin konnte Ehrlich von einem derartigen Parallelismus nichts bemerken.

Jedoch spricht, wie wir oben sahen, auch manches gegen eine Identität, so dass die Frage noch nicht als definitiv geklärt zu gelten hat. Nehmen wir aber die Identität an, so besteht das käufliche Ricin aus Vollkomplexen:



sowie aus Toxoïden entweder ohne jede ergophore Gruppe[1]), oder nur mit der agglutinierenden, also: Diese werden durch Pepsin beseitigt und dabei möglicherweise noch aus Vollkomplexen Toxoïde von der Form gebildet.

Das frische Ricin scheint wie das Diphtheriegift weniger Toxoïde zu enthalten, denn wie Jacoby angiebt, nimmt das Mercksche Präparat allmählich an Wirksamkeit ab.

Außer diesen notwendigerweise als Pro- resp. Syntoxoïde aufzufassenden Körpern scheint es aber auch, worauf Jacoby nicht hinweist, Toxone des Ricins zu geben; darauf lassen wenigstens die oben angegebenen Verhältnisse von D $(L_{+} - L_0)$ schließen, die durchaus an die Verhältnisse beim Diphtheriegift erinnern.

Aehnlich wie bei den Bakteriengiften hat man jetzt auch beim Ricin in Zweifel gezogen, ob nicht hier auch dissoziierte Gleichgewichtszustände vorkommen. Danysz (l. c.) fand thatsächlich sehr auffallende Verhält-

[1] Dies ist eigentlich wahrscheinlicher; dass es Toxoïde gerade mit der so empfindlichen agglutinophoren Gruppe geben sollte, ist schwer vorzustellen. Diese Frage ist im übrigen von ganz sekundärer Bedeutung.

nisse. Dass die Stärke des Niederschlags bei der Mischung (s. o.) ein Optimum hat, ist wohl nur ziemlich gewaltsam so zu deuten; wichtiger ist aber, dass es eine absolut neutrale Mischung nach Danysz überhaupt nicht giebt. Er fand, dass diese Gemische stets gleichzeitig toxische und antitoxische Wirkung besitzen: d. h. zwar selbst schwach giftig wirken, aber doch bei Zusatz einer vollen letalen Dosis den Tod verzögern oder ganz hindern. Seine darauf basierten Spekulationen sind ganz ähnlich denjenigen Bordets (s. im Allg. Teil). In Wirklichkeit dürfte es sich hier wahrscheinlich um dissoziierte Gleichgewichte nach Art der von Madsen & Arrhenius am Tetanolysin gefundenen handeln.

Das Antiricin.

Jacoby hat auch Versuche zur Isolierung des Antiricins angestellt. Von vornherein sei bemerkt, dass eine Trennung etwa eines Antitoxins von einem Antiagglutinin in keiner Weise möglich ist, und dass wir also unbeschadet der theoretischen, oben behandelten Fragestellung mit einem einheitlichen Stoffe zu rechnen haben.

Das Antiricin geht beim Aussalzen mit Ammonsulfat quantitativ in die Fraktion über, die bei $1/4$—$1/3$ Sättigung ausfällt. Dadurch konnte es schon von einem großen Teile der anderen Kolloïde getrennt werden.

Versuche mit Trypsin, die in derselben Weise, wie oben beim Ricin geschildert, durchgeführt wurden, zeigten eine völlige Resistenz gegen dieses Ferment.

Zweistündiges Erhitzen auf 60°, halbstündige Digestion mit gleichen Teilen $1/10$ Normalschwefelsäure und $1/10$ Normalnatronlauge bei 37°, Pepsinsalzsäure während einer Stunde bei 35° ließen das Antiricin unverändert. Dagegen wird es durch Säuren bei 60° zerstört.

Das Antiricin scheint also ein ähnlich beständiger Körper zu sein, wie die bakteriellen Antitoxine; es ist ein einfacher Receptor erster Ordnung; nur mit einer haptophoren Gruppe versehen.

Stepanoff (l. c.) konnte 24 Stunden nach Injektion von antiricinhaltigem Serum noch Antitoxin im Blut von Kaninchen finden. Nach 7 Tagen war das Antitoxin und auch die Giftfestigkeit verschwunden. Er fand es weder im Harn noch im Darmkanal, seine Ausscheidung ist also nicht nachweisbar; es wird vermutlich verbrannt.

Das Abrin.

Das Abrin ist ein dem Ricin sehr ähnliches Toxin aus dem Jequiritysamen, dem Samen von Abrus precatorius, einer in Ostindien, vielleicht auch in Brasilien heimischen Papilionacee. Es findet sich fast in der ganzen Pflanze (Henseval[1])

---

[1]) Henseval, L'abrine. La Cellule, XVII, 139. Malys Jb., 31, 910.

Es wurde von Bruylants & Vennemann[1]) entdeckt, die zuerst angaben, dass das wirkende Prinzip der Jequiritysamen nichts mit Bakterien zu schaffen habe, sondern ein Enzym, ein toxischer Eiweißstoff sei. Zu denselben Resultaten gelangten Warden & Waddell[2]) unter Robert Kochs Leitung in Calcutta. Sidney Martin[3]) konnte zeigen, dass das Abrin aus einem Globulin und einer Albumose besteht. Die Albumose wirkt ähnlich, aber viel schwächer als das Globulin; d. h. nach unsrer heutigen Anschauung bindet sich mehr Gift an das Globulin als an die Albumose, von denen beiden das eigentlich toxische Prinzip verschieden ist.

Seine hämolytische Kraft fand Kobert 1889 und ließ sie durch seinen Schüler Hellin[4]) genauer untersuchen.

Seine Wirkung ist der des Ricins so ähnlich, dass Ehrlich (l. c.) es nochmals für notwendig erachtete, seine Sonderexistenz zu prüfen. Es sind thatsächlich einige Unterschiede zu konstatieren, die es unzweifelhaft machen, dass das Abrin ein zwar dem Ricin sehr ähnlicher, aber doch selbständiger Stoff ist.

Es ist viel weniger toxisch als das Ricin, zumal per os. Ehrlich fand, dass dieselbe Verdünnung (1 : 100000) subkutan in 6 Tagen Mäuse tötete, die beim Ricin schon nach 60 St. zum Exitus führte. Dagegen fand Calmette (s. u.) für Kaninchen 0,5 mg pro kg in 48 St. tödlich, bei Mäusen 0,001 mg pro Tier. Römer[5] fand für 1 g Maus die Dos. let. zu 0,0005 mg.

Infiltrationen treten zwar ebenfalls auf, doch sind Nekrosen selten. Dagegen ist es eine spezifische Wirkung des Abrins, dass es um die Injektionsstelle herum einen starken Haarausfall, bis zur völligen Kahlheit bewirkt.

Der Sektionsbefund ist fast derselbe wie beim Ricin; außerdem findet sich eine eigentümliche hydropische Degeneration des Herzmuskels (Werhofsky[6]). Es wirkt im Gegensatz zu Ricin auch in kleinen Dosen auf Fischblut (Lau l. c.).

Entscheidend aber ist der Umstand, dass sich gegen das Abrin ebenfalls eine Immunität erzeugen lässt, die gegen Ricin nicht schützt; ebenso sind ricinfeste Tiere gegen Abrin nicht immun.

---

1) Bruylants & Vennemann, Le Jequirity. Bull. acad. méd. Belgique, III, 18, 147 (1884).

2) *Warden & Waddell, Non-bacillar nature of Abrus poison. Calcutta 1884.

3) Martin, The proteids of the seeds of Abrus. Proc. Roy. Soc., 42, 331 (1887). — Martin & Wolfenden, Physiolog. action of the seeds of Abrus prec. Ibid., 46, 94 (1889/90). — Martin, The toxic action of the albumose from seeds of Abrus prec. Ibid., 46, 100 (1889/90).

4) Hellin, Der giftige Eiweißkörper Abrin. Diss. Dorpat, 1891.

5) Römer, Ueber Abrinimmunität. Arch. f. Ophthalm., 52, 90 (1901).

6) Werhofsky, Beitr. z. pathol. Anat. der Abrinvergiftung. Zieglers Beitr. z. pathol. Anat., XVIII, S. 115 (1895).

Wirkung auf das Auge.

Die Wirkung auf die *Conjunctiva* ist viel energischer als die des Ricins: es treten nach Abrininjektionen auch dauernde schwere Schädigungen der Cornea oder Panophthalmitis auf. Infolge der energisch reizenden Wirkung wird das Abrin bisweilen in der Augenheilkunde angewendet; die heftige Entzündung bringt häufig Gefäßbildungen und Narben in der Hornhaut zum Schwinden. Die therapeutisch zulässige Anfangsdosis ist nach RÖMER[1]) für Kaninchen ca. 0,01 mg.

Man kann nach *Ehrlich* die Abrinwirkung dadurch regulieren, dass man die Conjunctiva selbst mit steigenden Dosen immunisiert; RÖMER[1]) hat zu praktischen Zwecken diese Immunisierung sehr hoch getrieben, da man dadurch schwerere Erscheinungen vermeiden kann, ohne die therapeutische Wirkung zu beeinträchtigen. Dabei bildet sich in der *Conjunctiva selbst* Antitoxin.

Ein Teil des Giftes wird ferner von dort aus resorbiert und erzeugt eine allgemeine Antitoxinbildung und Immunität, wenn auch nicht so energisch, wie bei der subkutanen Injektion. Es wurde höchstens 500 A.E. erreicht, die lokale Immunität tritt schneller ein als die allgemeine. Passive Immunisierung der Bindehaut mit Antiabrinserum schützt nur so lange, als das Antitoxin selbst noch vorhanden ist. Dagegen ist bei subkutaner Einführung reichlicher Mengen Antitoxin auch das Auge geschützt. Eine ausgebrochene Abrinophthalmie kann mit Heilserum lokal bekämpft werden, selbst in sehr schweren Fällen. Auch subkutane Anwendung großer Dosen wirkt heilend.

Eigenschaften des Abrins.

Versuche, über die Konstitution des *Abrins* eine Aufklärung zu erlangen, sind von HAUSMANN[2]) angestellt worden, der die JACOBYsche Methodik für das *Ricin* (s. dort) auf das Abrin übertrug.

Abrin fällt bei 60proz. Sättigung mit Ammonsulfat, und lässt sich durch mehrfaches Umfällen von einem Teil des beigemengten Eiweißes befreien. Das so gereinigte Abrin wirkt sehr intensiv toxisch, häufig so schnell, dass die Tiere sterben, ehe es zu Nekrosen und Darmerscheinungen kommt.

Dem Trypsin gegenüber ist Abrin wie Ricin beständig. Infolgedessen gelang es wie beim *Ricin*, ein Präparat zu gewinnen, das bei sehr hoher Giftigkeit keine Biuretreaktion mehr zeigte.

Dagegen ist die agglutinierende Wirkung gegen Pepsin-HCl sehr viel resistenter als die des Ricins (s. d.), bei energischer Einwirkung verschwinden schließlich die toxische und die agglutinierende Funktion fast gleichmäßig.

---

[1]) RÖMER, Ueber Abrinimmunität. Arch. f. Ophthalm., 52, 72 (1901).

[2]) HAUSMANN, Zur Kenntnis des Abrins. Hofm. Beitr., II, 134 (1901).

Sonst ist über die chemische Natur des Abrins noch nichts Spezielles auszusagen; soweit man weiß, verhält es sich in diesen Beziehungen genau wie Ricin. Nach CALMETTE[1]) wird es durch Jodtinktur, Goldchlorid und Hypochlorite unwirksam.

Es scheint wenig empfindlich gegen Verdauungssäfte zu sein. Nur HELLIN fand, dass es durch die Fermente des Darms zerstört wird. Dagegen ist nach NENCKI & SCHOUMOW-SIMANOWSKI[2]) Pepsin auf Abrin ohne Einfluss.

Ebenso fand RÉPIN[3]), dass die verdünnten Verdauungssäfte und auch die lebende Schleimhaut des Magens und Darmes, sowie die Darmbakterien unwirksam sind. Er nimmt vielmehr an, dass die geringere Schädlichkeit bei Darreichung per os, die nach HENSEVAL (l. c.) 200 bis 250mal kleiner ist als subkutan, dadurch bedingt ist, dass das Abrin einerseits sehr empfindlich gegen Säuren ist, also wohl im Magen zum Teil zerstört wird; andrerseits aber ist es außerordentlich schwer diffusibel. Er fand, dass nach 48 St. noch nicht 1 : 250 gegen Wasser herausdialysiert war. Es bleibt also deshalb im Darme, und er konnte es in den Faeces wiederfinden. Doch giebt HENSEVAL (l. c.) an, dass es von Dünndarm und Rectum auch absorbiert wird, sowie von der Blase und dem Peritoneum.

CALMETTE & DÉLÉARDE haben die Ausscheidung des Abrins untersucht. Das Herzblut der vergifteten Tiere erwies sich nach großen Dosen (10 mg intravenös) als toxisch; der Harn dagegen als völlig frei. Andererseits aber fanden sie, dass das Abrin unverändert im Darmtractus wiedererscheint, wenn man es Kaninchen intravenös giebt. Sowohl Herzblut wie Darminhalt immunisierter Tiere enthielt das eingeführte Gift nicht.

Interessant ist, dass CALMETTE[4]) mit Hilfe der spezifischen Antitoxine nachweisen konnte, dass die vergifteten Holzspänchen, mit denen die Inder aus böswilliger Absicht Haustiere vergiften, mit Jequiritykörnchen gespickt sind; auch mit Schlangengift imprägnierte Lappen, die Rindern in das Rectum gestopft werden und sie so vergiften, konnten auf diesem Wege als solche erkannt werden.

Einige Versuche über das Antiabrinserum, die CALMETTE & DÉLÉARDE angestellt haben, mögen hier noch erwähnt werden.

Das Antiabrin verliert bei 58° seine Wirksamkeit. Chlorkalk und Goldchlorid sind ohne Wirkung.

Nach HAUSMANN (l. c.) wird durch sehr geringe Antiabrindosen die

---

[1]) CALMETTE & DÉLÉARDE, Sur les toxines non microbiennes. Ann. Past., X, 675 (1896).

[2]) NENCKI & SCHOUMOW-SIMANOWSKI, Die Entgiftung d. Toxine d. d. Verdauungskanal. C. f. Bakt., 23, 840 (1898).

[3]) RÉPIN, Sur l'absorption de l'abrine par les muqueuses. Ann. Past., IX, 517 (1895).

[4]) CALMETTE, Sur le sérum antivénimeux. Compt. rend. de l'Ac., 122, 203 (1896).

Agglutinierung erheblich beschleunigt, was wohl durch die Beseitigung hindernder, an sich unwirksamer Proagglutinoïde (Protoxoïde) zu erklären ist.

Bei der Mischung von Abrin und Antiabrin entsteht wie beim Ricin ein starker Niederschlag, auch wenn man biuretfreies Abrin verwendet.

Das Krotin.

Ein drittes, dem Ricin nahestehendes Toxin findet sich in den Samen von Croton tiglium, einer ostindischen Euphorbiacee, aus denen das Krotonöl, das stärkste uns bekannte Drasticum dargestellt wird.

Stillmarck (l. c.) hat zuerst mit analogen Methoden wie zur Ricinbereitung das toxische Prinzip dieser Samen dargestellt.

Einer genaueren Untersuchung wurde das Krotin von Elfstrand[1]) unterzogen. Er extrahierte die mit Alkohol und Aether entölten Samen mit Wasser, 10proz. Kochsalzlösung oder Glycerin, fällte den wirksamen Bestandteil mit Alkohol oder Ammonsulfat, und reinigte ihn durch Dialyse.

Es zeigt eine weitgehende Analogie mit den anderen Toxinen. Bei 70° wird es in Lösung zerstört, die trockenen Samen bei 110° entgiftet. Pepsinsalzsäure soll es zerstören.

Toxische Wirkungen des Krotins.

Für Frösche fand Elfstrand die letale Dosis zu etwa 0,23 g pro kg. Die Tiere starben unter progressiver Lähmung, Abnahme der Reflexerregbarkeit und der faradischen Erregbarkeit, die erst das Gehirn, dann Rückenmark, Nerven und schließlich auch die Muskeln befällt. Hyperämie und Ekchymosen der Darmschleimhaut finden sich auch hier wieder. Auf das Herz hat auch das Krotin nur geringen Einfluss, auch die Endorgane der motorischen und sensiblen Nerven werden nicht beeinträchtigt.

Hechte sterben nach 0,04—0,1 pro kg unter Dyspnöe und Lähmung.

Bei Warmblütern (Kaninchen, Hunde, Katzen, Ratten, Hühner u. s. w.) treten lokale Infiltrationen und Nekrosen auch beim Krotin auf, wenn auch geringfügiger Natur. Es ist weit weniger giftig als Ricin und Abrin (letale Dosis ca. 0,05—0,1 pro kg), und auch wieder per os sehr viel weniger wirksam.

Die Allgemeinwirkungen sind denen des Ricins sehr ähnlich: Krämpfe, Sinken des Blutdruckes, Herabsetzung der Temperatur, Respirationslähmung u. s. w. Auch eine geringe Augenwirkung ist nachzuweisen.

Der Sektionsbefund ist ebenfalls ganz ähnlich.

---

[1]) Elfstrand, Ueber blutkörperchenagglutinierende Eiweiße. Görbersdorfer Veröffentlichungen, herausg. von R. Kobert. Stuttgart, F. Enke, 1898, 1.

Die Wirkung auf das Blut.

Elfstrand fand, dass Krotin auf das Blut von Rindern, Schafen, Schweinen, Hechten und Fröschen agglutinierend wirkt, sehr wenig auf das Blut von Katzen, fast gar nicht auf Menschenblut, gar nicht auf das Blut von Hunden, Meerschweinchen, Ratten, Hühnern, Gänsen und Tauben.

Lau (l. c.) ergänzte diese Befunde insofern, als er Agglutination beim Barschblut, keine dagegen bei der Katze und dem Igel fand. Beide fanden beim Kaninchenblut keine agglutinierende, sondern eine hämolytische Wirkung. Die präzipitierende Wirkung auf Serum soll beim Krotin fehlen. Auf gewaschene Erythrocyten und Stromata wirkt es ebenfalls agglutinierend. Sauerstoff soll die Krotinwirkung befördern, dagegen im Serum antitoxische Stoffe vorhanden sein, die die Wirkung hemmen. Auf Eiterzellen und andere Zellen hat es gar keinen oder einen viel geringeren Einfluss als Ricin, dagegen koaguliert es Milch. Mit der modernen Methodik der Hämolysinforschung haben Ehrlich & Morgenroth[1]) sowie Jacoby[2]) die Wirkungsart des Krotinhämolysins genauer untersucht.

Morgenroth stellte fest, dass das Krotin ein Haptin ist, da er bei Ziegen ein Immunserum erzielen konnte.

Jacoby fand für die Zusammensetzung des Krotinolysins aus Amboceptor und Komplement keine Anhaltspunkte, neigt vielmehr dazu, es als Haptin erster Ordnung wie das Ricin aufzufassen.

Nach seinen Versuchen mit partieller Absättigung (vergl. im Allg. Teil) konstatierte er, dass das Krotin eine ähnlich komplexe Natur besitzen muss, wie das Diphtherietoxin, nur ist zu bemerken, dass minimale Dosen von Antitoxin die Giftwirkung in geringfügiger Weise steigern, also gänzlich ungiftige Prototoxoïde fortschaffen, die einen Teil der Zellrezeptoren in Anspruch nehmen, und dadurch die Giftigkeit sogar verringern. Dann wird sehr schnell bei steigenden Antitoxindosen der Hauptteil des Giftes neutralisiert und dann folgt eine breite Zone sehr geringer Avidität, also Toxone, die nicht mehr zur kompletten Hämolyse führen, mit denen Jacoby aber immunisieren konnte.

Wie bei anderen Blutgiften (s. z. B. b. Arachnolysin) geht auch hier die Unempfindlichkeit mit der Unfähigkeit, Gift zu binden, parallel. Hunde und Meerschweinblutscheiben binden fast gar kein Krotin.

Ein thermostabiles Antikrotin, das scheinbar nach quantitativen Gesetzen die Krotinwirkung hemmt, fand Jacoby in dem Extrakte von Magenschleimhaut.

---

[1]) Ehrlich, Verh. Ges. Charité-Aerzte, Febr. 1898. Berl. klin. Woch., 1898, Nr. 12.

[2]) Jacoby, Ueber Crotin-Immunität. Hofm. Beitr., IV, 212 (1903).

Das Robin.

Ein viertes, dem Ricin ähnliches pflanzliches Toxin, das zuerst von Power & Cambier[1] 1890 entdeckt und als Phytalbumose beschrieben wurde, ist das Robin. Seine blutagglutinierende Eigenschaft wurde ebenfalls von Kobert aufgefunden. Es findet sich in der Rinde der sog. Akazie, Robinia pseudacacia.

Seine Giftigkeit hat schon häufig zu Vergiftungen bei Menschen und Tieren geführt, wofür Lau (l. c.) mehrfache Daten angiebt.

Es wirkt auf das Blut ganz analog wie das Ricin, nur ist die Wirkung beträchtlich schwächer, und versagt bei Hunde-, Katzen- und Menschenblut ganz.

Ebenso ist seine Toxizität ungleich geringfügiger als die des Ricins und Abrins. Erst die durch Ferrocyankalium von Beimengungen befreite, und mit Essigsäure wieder ausgefällte gereinigte Masse von 10 g Robin (käufl. Merck.) tötet ein 1-Kilo-Kaninchen in 4 Tagen. Sektionsbefund: Nephritis, sonst nichts Besonderes.

Ehrlich gelang es, gegen Robin zu immunisieren, und er fand die Thatsache, dass hochimmunisierte Tiere auch gegen Ricin festwerden; er neigt also dem Gedanken zu, dass das Robin ein Toxoïd des Ricins ist; dass derartige Ricintoxoïde existieren, hat ja, wie wir sahen, Jacoby wahrscheinlich gemacht.

Eine genauere Untersuchung des Robins wäre dringend zu wünschen, da diese Frage von größter prinzipieller Wichtigkeit ist.

IV. Die tierischen Toxine (Zootoxine).

Die Schlangentoxine.

So lange auch die Giftschlangen schon in den breitesten Volksschichten Furcht und Interesse erweckt haben, so jung ist die Geschichte der Erforschung ihrer Gifte. Merkwürdigerweise, muss man wohl sagen, denn eigentlich hätte doch wohl kaum etwas den Gelehrten näherliegen sollen, als die neugefundenen Erkenntnisse auf dem Gebiet der Giftlehre, speziell der alkaloïdähnlichen Pflanzengifte nun auf das Studium dieser für den Forscher ebenso interessanten, wie für die Volkshygiene wichtigen Gifte zu übertragen. Sterben doch allein in Indien über 20000 Menschen jährlich durch den Biss der Naja tripudians, der Brillenschlange. Und trotzdem blieb dies Gebiet fast völlig unbekannt, bis durch die Arbeiten über die Gifte der Bakterien, die besonders von Metschnikoff, Roux und Yersin inauguriert wurden, sich das Interesse auf diese Stoffe, die eine ähnliche märchenhafte Giftigkeit

---

[1] Power & Cambier, Pharmac. Journal, 1890, 711. Pharm. Rdsch., Febr 1890, S. 30.

besitzen, lenken musste. Dazu kamen noch äußere Gründe. Das Material für diese Arbeiten ist, soweit es wenigstens die wichtigsten Giftschlangen betrifft, kaum in Europa zu erhalten gewesen; erst als einerseits die amerikanische Medizin ihren gewaltigen Entwicklungsgang begann, und andererseits das Aufblühen der Tropenmedizin mit der Gründung der modernen Kolonialreiche einsetzte, trat auch das Studium der tropischen Giftschlangen in den Vordergrund. Damit soll natürlich nicht gesagt werden, dass nicht die Giftigkeit des Schlangengiftes vielfach untersucht wurde; dies ist namentlich an den südeuropäischen Vipern geschehen, und wir werden diese älteren Arbeiten gelegentlich streifen. Aber eine zielbewusste chemische und pharmakologische Untersuchung der eigentlichen Giftstoffe setzte erst relativ spät ein, als durch die Bakteriengifte ganz neue Horizonte erschlossen wurden. Von den älteren Arbeiten seien vor allem die von Fontana[1]), Fayrer & Brunton[2]) und Wall[3]) erwähnt, deren einzelne Angaben uns noch beschäftigen werden.

Natürlich richtete sich, wie fast überall in der Geschichte der Toxine, die Aufmerksamkeit zunächst auf alkaloïdähnliche, den Ptomaïnen vergleichbare Stoffe. So stellte dann zuerst Gautier 1881 aus dem Gift von Naja einerseits und Trigonocephalus (der amerikanischen Lanzettschlange) zwei alkaloïdähnliche Stoffe her, das Naïn und Elaphin; er musste indessen selbst erkennen, dass diese Stoffe relativ harmlos sind; und so blieb hier der Wissenschaft die Enttäuschung erspart, die sonst fast überall der anfänglichen Ueberschätzung der Ptomaïne folgte.

Gautier erklärt demzufolge, dass das »wirklich wirksame Prinzip des Schlangengiftes zwar stickstoffhaltig, aber nicht alkaloïdähnlich« ist.

Um dieselbe Zeit nahmen in Amerika Weir Mitchell & Reichert[4]) das genauere Studium der Schlangengifte auf.

Etwas intensiver hatte man sich schon früher mit den Giften der europäischen Vipern (Pelias berus) beschäftigt (Fontana, Valentin[5]) u. a.). Mit diesen Arbeiten beginnt das eigentliche Entwicklungsstadium dieses neuen Zweiges der Biologie. Es folgen dann die grundlegenden Arbeiten von Calmette, denen wir neben Martin, Fraser und Phisalix, sowie den ganz modernen Untersuchungen von Flexner, Kyes und Sachs, fast alles Wesentliche verdanken.

---

1) *Fontana, Trattado del veleno della vipera 1787.

2) Fayrer & Brunton, On the Nature of the Poison of Naja tripudians etc. Proc. Roy. Soc., 22, 68 (1874).

3) Wall, On the poisons of certain species of Indian snakes. Proc. Roy. Soc., 32, 333 (1881).

4) Weir Mitchell & Reichert, Researches upon the venoms of poisoneous serpents. Smithsonian Contrib., Nr. 647. Philadelphia 1885. Washington 1886. Cit. n. Flexner l. c.

5) Valentin, Einige Beobachtg. üb. d. Wirkg. des Viperngiftes. Z. f. Biol., XIII, 80 (1877).

Durch einen glücklichen Zufall bekam CALMETTE[1]), damals Chef des bakteriologischen Instituts zu Saigon, im Oktober 1891 22 frische Giftdrüsen der Brillenschlange in die Hand, und er nahm diesen Umstand als Ausgangspunkt seiner klassischen Untersuchungen.

Die eigentliche Giftquelle sind die den Speicheldrüsen ähnlich gebauten Giftdrüsen der Schlangen; indessen fand CALMETTE[2]) auch das Blut der Cobra ziemlich giftig. 2 cm^3 töteten ein 1500 g schweres Kaninchen intravenös in 3 Minuten. Leber und Galle dagegen sind nicht giftig. Auch das Blut sonst ungefährlicher Schlangen (Tropidonotus) ist nach PHISALIX & BERTRAND[3]) giftig. Dieses Blutgift zeigt einige Eigentümlichkeiten, auf die wir noch zurückkommen werden.

Die Giftdrüse der Naja entleert beim Ausdrücken ca. 3 g eines durchscheinenden fadenziehenden Saftes, der sich an der Luft zu Klumpen zusammenballt. CALMETTE[1]) behandelte nun diese Drüsen mit Glycerin, mit destilliertem Wasser und mit 10proz. Kochsalzlösung und erhielt stets Extrakte von sehr großer Giftigkeit. Am energischsten wirkt das Toxin direkt intravenös injiziert, weniger subkutan, von dem Peritoneum und der Trachea; vom Darm aus wirkt es gar nicht.

Die Menge des sezernierten giftigen Speichels fand CALMETTE (1895) durchschnittlich zu 0,135 g, entsprechend ca. 30—45 mg Trockensubstanz, wenn er 8—14 Tage zwischen den einzelnen Bissen verstreichen ließ. Nach 2 Monaten dagegen lieferte jeder Biss bis ca. 0,22 g Speichel. Die größte Menge, die er aus 2 Giftdrüsen eines toten Tieres extrahieren konnte, war 1,136 g = 0,48 Trockensubstanz. Aehnliche Zahlen ergaben Untersuchungen anderer Giftschlangen.

Es findet also durchwegs eine beträchtliche Erhöhung der sezernierten Menge und damit der Gefahr eines Bisses statt, wenn die Schlange längere Zeit nicht gebissen hat. Bei winterschlafenden Schlangen, z. B. den europäischen Vipern ist also im Frühjahr der Biss am gefährlichsten.

Darstellung des giftigen Prinzips.

In auch nur annähernd reinem Zustande sind Schlangentoxine nicht dargestellt. Die Methoden der Konzentrierung sind stets dieselben wie bei allen Toxinen und Enzymen.

Wässrige, Kochsalz- oder Glycerinextrakte enthalten das giftige Prinzip, das nun durch verschiedene Fällungen, Dialyse u. s. w. gereinigt wird.

MARTIN konnte einen Teil des inaktiven Ballastes durch fraktionierte Koagulation entfernen, da aus seinem in 0,9proz. NaCl-Lösung gelösten

---

[1]) CALMETTE, Étude expérimentale du venin de naja tripudians. Ann. Past., VI, 160 (1892).

[2]) CALMETTE, Sur la toxicité du sang de cobra. Soc. Biol., 46, 11 (1894).

[3]) PHISALIX & BERTRAND, S. l. présence des glandes venimeuses chez les couleuvres. Soc. Biol., 46, 8 (1899).

Hoplocephalusgift bei 85° ein fremder Bestandteil sich ausschied, während das eigentliche Gift bei 90° noch wirksam blieb.

CALMETTE[1]) verfährt neuerdings zur Gewinnung eines beständigen, ziemlich von Eiweißstoffen befreiten Giftes folgendermaßen: Er filtriert eine Lösung von 1 g Cobragift in 100 Teilen Wasser durch sterilisiertes Filtrierpapier, schließt luftdicht in ein Glasrohr ein und erhitzt 1/2 Stunde auf 75°, nach 24 Stunden auf 80°, dann filtriert er durch Papier die ausgeschiedenen Stoffe ab und dialysiert. So erhielt er 42 mg eines trockenen Rückstandes, der noch Biuret- und MILLONsche Reaktion giebt, sonst aber keine Eiweißreaktionen. Das Gift passiert glatt durch CHAMBERLAND-Filter.

Chemische Natur des Toxins.

Nachdem die Alkaloïde sich als unwirksam erwiesen hatten, kam nun, wie überall, die Periode der Toxalbumine, die bei den Bakteriengiften heute so gut wie überwunden ist. Auch die Schlangengifte sind wahrscheinlich keine Eiweißkörper im engeren Sinne und so haben denn die Versuche, die mit ihnen verbundenen Eiweißstoffe näher zu untersuchen, vorwiegend nur noch historisches Interesse.

WEIR MITCHELL fand im Gift von Crotalus durissus (Klapperschlange) Albumine, WOLFENDEN[2]) verschiedene Eiweißstoffe (Globuline, Albumin, Albumosen) bei Naja und Daboia, kein Pepton. KANTHACK[3]) hält das Gift für eine Protalbumose. MARTIN & SMITH[4] fanden bei Pseudechis porphyriacus und Hoplocephalus curtus ein ungiftiges Albumin, kein Pepton, aber zwei giftige Albumosen, eine Hetero- und eine Protalbumose.

Ueber die Konstitution der Toxine selbst ist noch nichts bekannt.

Eigenschaften des Toxins.

Das Schlangengift zeigt alle Eigenschaften, welche den noch nicht reinen Toxinen zukommen, in Bezug auf Fällbarkeit u. s. w. Nur soll das Cobragift nach CALMETTE nicht mit frisch gefälltem Calciumphosphat mitgerissen werden, was sonst eine allgemeine Eigenschaft aller dieser Kolloïde ist. Es fällt auch nicht mit Magnesiumsulfat, enthält also keine Globuline.

Es dialysirt langsam, aber merklich. Viperngift wird beim Passieren durch Porzellanfilter geschwächt (PHISALIX[5]). Gegen Erwärmen ist es weniger empfindlich als die anderen Haptine. Cobragift lässt sich

---

[1]) CALMETTE, Sur le venin des serpents etc. Ann. Past., XI, 214 (1897).

[2]) WOLFENDEN, The venom of the indian cobra. Journ. of phys., VII, 327 (1886). — Ders., The venom of the indian viper (Daboia). Ibid., 357.

[3]) KANTHACK, The Nature of Cobra poison. Journ. of phys., XIII, 272 (1893).

[4]) MARTIN & SMITH, The venom of the australian black snake. Proc. R. S. New-South-Wales, 1892, 240. Malys Jb., 1894, 404.

[5]) PHISALIX, Soc. Biol., 48, 233, 656 (1896).

eine Stunde lang auf 90° erhitzen und tagelang auf 38°, wird bei 97° in einer halben Stunde wenig geschädigt, verliert aber bei 98° in $^1/_2$ Stunde völlig seine Wirkung. Dagegen ist gereinigtes Gift (Calmette 1897) schon gegen 80° recht empfindlich, in destilliertem noch mehr als in kochsalzhaltigem oder Glycerinwasser. Diese Erscheinung findet sich auch bei allen Haptinen wieder. Wichtig ist, dass das Blutgift der Cobra beträchtlich empfindlicher ist als das Speichelgift, da es schon bei 68° in 10 Minuten zerstört wird (Calmette & Déléarde[1]).

Faradische Ströme sind einflusslos, dagegen wirken in Kochsalzlösung konstante Ströme durch Elektrolyse und Chlorerzeugung schädlich. Viperngift soll dagegen durch Ströme hoher Spannung geschädigt werden (Phisalix).

Es erscheint resistent gegen: schwache Karbolsäure, Sublimat 1:1000, Kupfersulfat, Jod, Jodkalium, Alkohol, Aether, Chloroform, ätherische Oele. Ammoniak schädigt selbst in großen Dosen erst nach längerer Zeit (Kanthack). Dieses vielgepriesene Heilmittel hat also wenigstens auf das Gift selbst gar keine Wirkung. Gift von Vipera aspis hielt sich 20 Jahre lang in einem Spiritusexemplar der Schlange (Maisonneuve[2]).

Dagegen erwies sich Permanganatlösung (1 proz.) als schädlich für das Gift und rettete die Tiere auch noch bei unmittelbar nach der Vergiftung an derselben Stelle vorgenommener Injektion fast stets; aber schon nach ganz kurzer Zeit war die Injektion erfolglos, ebenso bei Einführung an anderer Stelle, auch intravenös oder in nächster Nachbarschaft der Intoxikationsstelle. Auch Chlorkalk wirkt schädlich (Phisalix & Bertrand[3]). Noch intensiver wirkt Goldchlorid, während Platinchlorid wirkungslos ist.

Eine 1 proz. Goldchloridlösung vernichtet schon in geringer Menge die Wirksamkeit des Giftes. Es schützt auch bei Einführung an anderen Stellen, auch gegen ziemlich große Dosen, und auch noch kurze Zeit nach der Vergiftung. Calmette wollte diese Eigenschaft des Goldchlorids zu therapeutischen Zwecken benutzen, doch sind diese Versuche durch seine eigenen Entdeckungen einer wirksamen Immunisierung und Serumtherapie bedeutungslos geworden.

Sehr interessant sind Versuchsreihen, die eine große Empfindlichkeit der Schlangengifte gegen einige an sich völlig indifferente Stoffe er-

---

[1]) Calmette & Déléarde, Sur les toxines non microbiennes. Ann. Past., X, 675 (1896).

[2]) Maisonneuve, Longue conservation de la virulence du venin des Serpents. Compt. rend. de l'Acad., 123, 513 (1896).

[3]) Phisalix & Bertrand, Soc. Biol., 47, 443 (1895).

weisen, auf die besonders von PHISALIX[1]) in mehreren Arbeiten hingewiesen wurde.

Als solche erwiesen sich Tyrosin und Cholesterin.

Auch Pilzextrakte mit Chloroformwasser sollen schützen, die auch bei vorheriger Injektion immunisierend wirken, und zwar bis 25 Tage lang, beginnend 24 Stunden nach der Einführung, speziell gegen Vipergift.

Eine Unwirksammachung giftiger Haptine durch diese Stoffe, die auf einer Bindung des giftigen Prinzips beruht, ist auch bei manchen anderen Toxinen (Tetanus, Botulotoxin) berichtet worden.

Wirkung von Organextrakten und Sekreten.

Ausgehend von der Thatsache der Resistenz der Schlangen, auch der harmlosen, suchte man ferner nach Gegengiften gegen die Schlangentoxine in Organextrakten.

Besonders die Galle ist in vitro ein wirksames Antitoxin. Wie die Bakteriengifte, so werden auch im allgemeinen die Schlangengifte durch Galle angegriffen. Ob die Galle nur einfach zerstörend wirkt, wie z. B. auf Diphtherietoxin, oder auch ein spezifisches Antigift enthält, ist noch nicht sicher; wir werden darauf noch zurückkommen. Eine rein chemische Beeinflussung ist indessen anzunehmen, denn nach CALMETTE[2]) wirkt auch das glykocholsaure Natrium derartig, so dass man wohl die allgemeine Gallenwirkung darauf zurückführen kann. Diese Eigenschaft behält die Galle auch nach dem Erhitzen auf 100°, verliert sie dagegen bei 120°

Bezugnehmend auf die Seitenkettenimmunität beim Tetanus suchte MYERS[3]) nach einer antitoxischen Funktion der Organe, fand aber eine solche nur im Extrakt der Nebennieren. Auch dieser soll aber nur in vivo resistenzsteigernd, nicht aber spezifisch antitoxisch wirken. Auch CALMETTE[2]) fand, dass Nervensubstanz nicht bindet, ebensowenig Leberextrakt.

FLEXNER & NOGUCHI[4]) haben verschiedene Organe auf ihren Neutralisationswert gegenüber einer dreifach tödlichen Dosis von Copperheadgift geprüft, die das Kontrollmeerschwein in 45 Minuten tötete.

---

[1]) PHISALIX, La tyrosine vaccine chimique du venin du vipère. Compt. rend. de l'Acad., 126, 431. — Ders., Les sucs de Champignons vaccinent contre le venin de vipère. Ibid., 127, 1036 (1898).

[2]) CALMETTE, Sur le mécanisme de l'immunisation contre les venins. Ann. Past., XII, 343 (1898).

[3]) MYERS, Cobra poison in relation to Wassermanns new theory of immunity. Lancet, 1898, II, 23.

[4]) FLEXNER & NOGUCHI, Snake venom in relation to haemolysis etc. Journ. of exper. med., VI, 277, (1902). S. A.

Nur das Gehirn zeigte eine energisch schützende Wirkung. Das Tier starb erst nach 19 Stunden und ein anderes überlebte die zweifache Dos. let., die das Kontrolltier in 5 Stunden tötete. Die anderen Organbreie bewirkten nur erhebliche Verzögerungen.

Das Hämolysin wird gar nicht gebunden.

Wirkungsart der Schlangengifte.

Wie wir später ausführlich zeigen werden, bestehen die Schlangengifte neben den beiden spezifischen auf Blutkörperchen wirkenden Agentien, die gesondert besprochen werden sollen, aus zwei giftigen Komponenten, dem Neurotoxin und dem Hämorrhagin. Da letzteres hauptsächlich bei Crotalus eine Rolle spielt, bei der Cobra fast ganz fehlt, so beziehen sich die folgenden Angaben zunächst auf das Neurotoxin der Cobra und anderer Schlangen.

Dieses Gift ist von ungeheurer Wirkungskraft. Calmettes erstes Glycerinextrakt tötete in einer Dosis von einem Tropfen Ratten und Tauben in weniger als einer Stunde, Hühner und Kaninchen in wenig mehr Zeit.

Martin[1]) fand bei Hoplocephalus curtus (Tigerschlange) die Dosis letalis für 1 kg Kaninchen zu 0,03 mg. Dies Gift soll das wirksamste sein. Valentin fand bei der Vipera aspis = ca. 0,5 mg für den Frosch. Flexner & Noguchi (l. c.) bei der Copperheadschlange (Ancistrodon contortrix) für Meerschweinchen zu 0,3 mg.

Calmette[2]) giebt an, dass bei einer Naja, die während 8 Monaten keinerlei Nahrung zu sich nahm, das Gift sich in seiner Wirksamkeit beträchtlich steigerte. Töteten zuerst 0,7 mg trockenen Giftes ein Kaninchen von 1700 g, so genügten nach 2 Monaten 0,25 mg und nach dem Tode des Tieres 0,1 mg (für ein Kaninchen von 2000 g). Aehnliches beobachtete er bei einer andereren Cobra während 3 Monaten.

Eine vergleichende Bestimmung der Giftigkeit ergab folgende Tabelle:

	Dos. let. Kaninchen 3—4 Stunden 1600—2000 g	do. Meerschwein 450—550 g
Naja tripudians (1—3)	0,3—0,6 mg	0,05 mg
Naja haje (4—6)	0,3—0,7 »	0,07 »
Cerastes (Hornviper) (7—8)	1,5—2,0 »	0,1 »
Crotalus	3,5 »	0,3 »
Trigonocephalus	2,5 »	0,2 »
Hoplocephalus	2,5 »	
Acantophis (Todesschlange)	1,0 »	0,08 »

---

1) Martin & Cherry, The nature of the antagonism between toxins and antitoxin. Proc. Roy. Soc., 63, 420 (1898). — Martin, Relation of the toxin and antitoxin of snake venom. Ibid., 64, 88 (1899).

2) Calmette, Contrib. à l'étude des venins. Ann. Past., IX, 225 (1895).

Das Meerschweinchen ist also ca. doppelt so empfindlich wie das Kaninchen. Der Hund ist noch weniger empfindlich. Das Schwein, der Igel und die Mangnste, (Herpestes) eine kleine Viverridee der Antillen, sind fast refraktär. Eine Mangnste starb erst nach 8 mg Cobragift. Der Igel ist wenigstens gegen den Biss der Viper wenig empfindlich. Nach PHISALIX & BERTRAND[1]) braucht man die 40fache für Meerschwein tödliche Dosis. Das Blut des Igels ist dann selbst giftig, diese Giftigkeit verschwindet beim Erwärmen.

Fast refraktär, aber auch nicht absolut, sind die Schlangen selbst, seien es Giftschlangen oder harmlose, wie die Ringelnatter (Dos. letalis 0,03 g) (FRASER[2]), PHISALIX & BERTRAND[1]).

Auch Fische, Eidechsen, Würmer sind nicht völlig refraktär.

Die meisten Schlangengifte erzeugen zunächst wie andere Toxine auch schwere Lokalerscheinungen. Heftige Entzündung, Oedeme, Hämorrhagieen, selbst Nekrosen treten auf.

Jedoch scheinen diese lokalen entzündungserregenden Wirkungen des Schlangentoxins kein integrierender Bestandteil der Gesamtwirkung zu sein, wie wir es ganz analog bei den anderen Toxinen gefunden haben. So wird nach CALMETTE (1895) die lokale Wirkung durch Erwärmen auf 80° sehr geschwächt, die allgemein toxische nicht. Nach KAUFMANN[3]) wirken Chromsäure und Permanganat ganz ähnlich.

Sie sind ferner bei den Schlangengiften verschiedener Herkunft sehr verschieden intensiv. Cobragift zeigt sie wenig, Crotalus sehr heftig. Wie schon MITCHELL & REICHERT annehmen, und die neueren Arbeiten (s. u.) stützen, sind diese pyrogenen Stoffe von dem eigentlichen neurotoxischen Prinzip durchaus zu trennen. Wohl aber hängt ihre Wirkung mit dem zweiten Hauptbestandteil, dem Hämorrhagin (s. u.) zusammen.

Die Resorption des Giftes ist eine ungeheuer rasche. Eine an der Schwanzspitze geimpfte Ratte ist nach einer Minute durch Amputation nicht mehr zu retten (CALMETTE l. c.), und stirbt bei einer Differenz von 5 Min. zu gleicher Zeit wie das Versuchstier.

Die Vergiftung verläuft auch beim Menschen höchst akut.

Das gebissene Glied schwillt an, es folgt Zusammenziehung des Mundes, Zusammenpressen der Zähne, Ohnmachten, der Tod erfolgt im tiefsten Koma.

Die Mortalität schwankt zwischen 25 und 45%. Sie ist sehr abhängig von der Menge des eingeführten Giftes. Hat die Schlange kurz vorher gebissen oder wirken Kleidungsstücke schützend, so ist der Biss relativ

---

[1]) PHISALIX & BERTRAND, Glandes venimeuses chez les couleuvres. Soc. Biol., 46, 8 (1894); 47, 639 (1895).

[2]) FRASER, Immunity against snake poison. Brit. med. journ., 1895, I, 1309.

[3]) KAUFMANN, Sur le venin de la vipère. Soc. Biol., 46, 113 (1894).

ungefährlich; furchtbar dagegen, wenn er eine gefäßreiche Stelle trifft. Eine Injektion in die Venen ist fast stets tödlich.

Die Allgemeinerscheinungen setzen ein mit Schwäche, Erbrechen, Atemnot, Ptosis. Verlust der faradischen Erregbarkeit der Muskeln. Unter Stillstand der Respiration erfolgt der Tod. Infolgedessen sind Frösche, die die Lungenatmung länger entbehren können, eine Zeitlang zu erhalten (bis 30 St.).

Aehnlich wie bei der Cobra ist die Giftwirkung des Speichels von Vipern (Vipera Redii u. s. w.). A. Mosso[1]) fand beim Hund nach Injektion von 0,0077 g pro kg intravenös Steigerung der Atemfrequenz mit bald darauffolgender (15 Min.) Inspirationslähmung. Verminderung der Herzaktion, die nach Aufhören der Atmung fortdauert. Durch künstliche Respiration lässt sich das Leben noch ca. 2 St. erhalten; auch spontane Atmung stellt sich wieder ein; schließlich erlischt sie wieder und das Tier stirbt ruhig nach leichten Kontraktionen.

Nach Phisalix & Bertrand[2]) töten 0,3 mg des Giftes von Vipera aspis ein Meerschweinchen unter Hypothermie, Gefäßdilatation und Hämorrhagieen.

Valentin fand eine Herabsetzung der Sauerstoffaufnahme.

Das Herz wird direkt nicht tangiert. Bei Naja egiziana stellten schon Panceri & Gasco[3]) fest, dass das entblößte Herz eines Axolotl in ihrem Gift unverändert weiterschlägt.

Der Blutdruck ändert sich bei künstlicher Atmung nicht. Sonst allerdings tritt nach anfänglicher Steigerung ein Fallen des Blutdruckes auf, wie schon Albertoni[4]) angiebt. Auch Kaufmann[5]) fand für Pelias berus Herabsetzung.

Valentin[6]) beobachtete beim Frosch eine nach fünf Stunden manifeste Unerregbarkeit der Muskeln und Nerven. Das zentrale Nervensystem wird früher unerregbar, als das Hüftgeflecht.

Es handelt sich also bei der Allgemeinvergiftung mit Schlangentoxinen vorwiegend um eine Wirkung auf das Zentralnervensystem, und zwar vor allem auf die motorischen Kerne der Medulla. Die peripherischen Nerven dagegen sind beim Frosch wenigstens unempfindlich (Calmette). Bei dieser Wirkung tritt hauptsächlich die neuro-

---

[1]) A. Mosso, Die giftige Wirkung des Serum der Mureniden. Arch. f. exper. Path., 25, 111 (1888).

[2]) Phisalix & Bertrand, Toxicité du sang de la vipère. Compt. rend. de l'Acad., 117, 1099 (1893).

[3]) Panceri & Gasco, Agli effetti del veleno della naja egiziana. Atti Acad. Reale Napoli, 1873, p. 73. Cit. n. Mosso l. c.

[4]) Albertoni, Sull' azione del veleno della vipera. Lo sperimentale, 1879. Cit. n. Mosso.

[5]) Kaufmann, Soc. Biol., 48, 860 (1896).

[6]) Valentin, Einige Beobachtungen über die Wirkungen des Viperngiftes. Z. f. Biol., XIII, 80 (1877).

toxische Komponente in Aktion. Wir werden unten sehen, dass dies nicht bei allen Schlangengiften so ist, vor allem nicht bei Crotalus, wo die hämorrhagisch wirkende Komponente das Vergiftungsbild beherrscht. Die hämolytische Komponente bleibt dabei ganz außer Betracht und wird gesondert besprochen werden.

Da es sich bei dem Neurotoxin um ein spezifisches Gift für das Zentralnervensystem handelt, das nirgend wo anders gebunden wird, monotrop nach Ehrlich[1]) ist, so ist seine intercerebrale Injektion nicht wirksamer als die anderweitige.

Cobragift, das frei von Hämolysin und Hämorrhagin war, wurde von Flexner & Noguchi (l. c.) intercerebral injiziert. Die Dos. let. war nicht kleiner als bei subkutaner Injektion.

Ganz anders verhielt sich Crotalusgift, bei dem die Dos. let. 20mal geringer war, wenn intercerebral injiziert wurde. Dieses Gift enthält nur wenig Neurotoxin, es wird hauptsächlich anderweitig verankert. Die große Wirksamkeit der intracerebralen Injektion beruht hier thatsächlich auch nur auf der hämorrhagischen Wirkung des Crotalusgiftes, und verschwindet deshalb mit dem Erwärmen auf 75°, wobei das Hämorrhagin zerstört wird. Mokassingift und das von Ancistrodon stehen in der Mitte, da bei ihnen beide Komponenten reichlich vorhanden sind.

Auf die Conjunctiva hat das frische Cobragift eine sehr heftige Wirkung, ähnlich wie das Abrin. Jedoch lässt sich dem Gift diese Eigenschaft durch Erwärmen auf 90° nehmen, ohne die Toxizität wesentlich zu beeinträchtigen.

Eine Resorption von dieser Stelle aus scheint nicht stattzufinden, wie sie andererseits beim Ricin beobachtet wird. Ganz dasselbe hatte Valentin beim Vipergift gefunden.

Die zwischen der Wirkung der einzelnen Schlangentoxine aufgefundenen Differenzen lassen sich zum allergrößten Teil auf den verschiedenen Gehalt an den einzelnen Komponenten zurückführen, indem bald das Neurotoxin, bald das Hämorrhagin überwiegt. Mitunter spielt wohl noch das hämolytische Prinzip eine toxigene Rolle.

Besonders in Bezug auf die lokalen Erscheinungen (Oedeme, Nekrosen u. s. w.) unterscheidet sich das Gift der Crotalus, Trigonocephalus, Cerastes durch eine viel erheblichere Wirksamkeit als das Cobragift.

Während man ferner nach Calmette durch Erwärmen dem Cobragift seine lokal reizende Wirkung ganz nehmen kann, geht beim Crotalusgift nach Mc Farland[2]) bei gleichem Verfahren auch die Toxizität zum großen Teile verloren. Farland konnte infolge der enormen Schädi-

---

[1]) Ehrlich, Ueb. d. Bezieh. von chemischer Konstitution, Verteilg. u. pharm. Wirkg. Festschr. f. Leyden, 1902. S. A.

[2]) Mc Farland, Immunization of animals to rattle-snake venom. Ref. C. f. Bakt., 29, 496 (1901).

gungen subkutan überhaupt nicht immunisieren, sondern gelangte nur durch intravenöse Injektionen zum Ziel.

Wie FLEXNER & NOGUCHI fanden, ist nämlich bei den Krotaliden das eigentliche Gift ausschließlich das Hämorrhagin, die neurotoxische Komponente tritt gänzlich zurück, während sie beim Cobragift das Bild völlig beherrscht. Mokassinschlange und Copperhead (Ancistrodon) enthalten beide Komponenten.

So kommt es, dass das Crotalusgift und anderer verwandter Schlangen (Pseudechis u. s. w.) Hämorrhagieen verursacht, die beim Cobragift fehlen, worauf schon MITCHELL & REICHERT näher eingegangen sind. Das Hämorrhagieen erzeugende Gift wird bei 75° zerstört und damit ein Teil der Giftigkeit, so dass erst 10—20 Dos. let. unter Erscheinungen zum Tode führen, die der Vergiftung mit Cobragift ähneln, also dem Neurotoxin zuzuschreiben sind.

Man könnte danach zunächst daran denken, dass hier das Hämolysin die allgemeine Toxizität bedingt.

Nun kann man aber das Hämolysin, auf das wir sogleich näher eingehen werden, durch Bindung an empfängliche Erythrocyten entfernen: dabei bleibt aber die allgemeine Giftigkeit erhalten.

Daraus geht hervor, dass das Hämorrhagieen erzeugende Gift auch nicht mit dem eigentlichen Hämolysin identisch ist, ebensowenig wie mit dem Neurotoxin, sondern dass hier ein drittes selbständiges Gift vorhanden ist, dem FLEXNER & NOGUCHI den Namen Hämorrhagin gegeben haben.

Dieses Gift ist auch im Cobragift enthalten, jedoch in 10fach geringerer Menge als bei der Mokassinschlange und in hundertfach geringerer als bei der Klapperschlange.

Infolge des sehr verschiedenen Gehaltes der einzelnen Gifte an den drei Komponenten Neurotoxin, Hämolysin und Hämorrhagin ist auch das Verhältnis der letalen Dosis zu der gerade noch nachweisbaren Hämorrhagindosis ein sehr wechselndes. So entspricht bei der Cobra die Dos. let. (0,1 mg) einer hämorrhagischen Dosis, bei der Mokassinschlange (0,2) : 20, bei der Copperhead 60 und bei der Klapperschlange (1,0) der tausendfachen Dosis.

Die histologischen Veränderungen, die das Hämorrhagin an den Gefäßen verursacht, sind von FLEXNER & NOGUCHI genauer untersucht worden.

Es handelt sich nicht um Diapedesis, sondern um Risse in der Wand der Gefäße, die geradezu Löcher bekommen. Dabei tritt Stase in den Gefäßen auf, ferner Riesenzellen, die die kleinen Gefäße verstopfen. Rote und weiße Blutkörper wandern gleichmäßig aus.

Sie führen diese Durchlöcherung der Gefäßwände zurück auf ein spezifisches Cytolysin für die Endothelien der Gefäßwand.

Andererseits findet WALL (l. c.) zwischen dem Gift der Colubridee

Cobra und der Viperidee Daboia Russeli doch recht beträchtliche Differenzen, die durch den verschiedenen Gehalt an den Einzelkomponenten nicht ohne weiteres erklärt sind.

Das Daboiagift erzeugt sehr schnell heftige Konvulsionen, während deren häufig der Tod eintritt, dann folgt erst Paralyse, die aber nicht, wie bei dem Cobragift, speziell die Atmungswerkzeuge lähmt. Ueberhaupt wirkt das Daboiagift nicht so schnell auf die Atmung. Es bewirkt konstant Mydriasis, dagegen fehlt die für Cobragift charakteristische Salivation. Cobragift erzeugt nie, Daboiagift stets Albuminurie. Letzteres ist ein sehr heftiges Blutgift; infolgedessen sind die Vergifteten auch dann noch in großer Gefahr, wenn sie das erste Stadium der Konvulsionen und Paralysen überstanden haben; während bei der Cobravergiftung die Entscheidung über Leben und Tod in wenigen Stunden fällt, sterben bei der Daboia die Gebissenen noch bis zum Ende der zweiten Woche.

In der That konnte LAMB[1]) für das Hämolysin der Daboia nachweisen, dass es einen von dem des Cobrahämolysins durchaus verschiedenen Amboceptor besitzt (s. u.).

Toxoïde des Schlangentoxins.

Die Existenz von ungiftigen resp. schwächer giftigen, aber immunisierenden Toxoïden des Schlangentoxins ist zwar nicht sichergestellt, aber wahrscheinlich.

PHISALIX & BERTRAND[2]) beobachteten, dass das giftige Serum der Viper und Natter beim 15 Min. langen Erwärmen auf 58° zwar seine toxische, aber nicht seine immunisierende Kraft einbüßt, ähnlich auch das Gift von Vipera aspis nach einigen Minuten langem Erwärmen auf 75—90° Dieselben fanden, dass durch hochgespannte Ströme geschwächtes Gift (s. o.) noch immunisiert.

Auf Grund genauerer quantitativer Untersuchungen nach der EHRLICHschen Methodik hat MYERS[3]) für das Cobrahämolysin Toxoïde nachgewiesen.

FLEXNER & NOGUCHI (l. c.) fanden unverkennbare Toxoïdbildung beim Stehenlassen von Cobragift während drei Wochen. Die Dos. let. stieg von 0,1 auf 0,4 mg, ohne dass die neutralisierende Antitoxindosis merklich geringer wurde, wenn 4 letale Dosen als Testgift benutzt wurden; es bilden sich also Protoxoïde aus. Noch schneller ging derselbe Prozess im Brutschrank vor sich, wobei in 19 Tagen die Dos. let. auf das Zehnfache stieg, wobei allerdings außer Toxoïdbildung auch eine partielle

---

[1]) Cit. n. KYES, Berl. klin. Woch., 1903, Nr. 43.

[2]) PHISALIX & BERTRAND, Atténuation du venin de vipère par la chaleur. Compt. rend. de l'Acad., 118, 288 (1894).

[3]) MYERS, The interaction of toxin and antitoxin. Journ. of pathol., VI, 415 (1900).

Zerstörung eintritt. Dagegen zerstören Pepsin und Papaïn das Gift ohne Toxoïdbildung ganz.

Aehnlich verhält sich Cobrahämolysin. Dagegen ist das Hämorrhagin der Crotalus viel beständiger, während auch hier Neurotoxin und Hämolysin in Toxoïde übergehen.

Das Hämolysin der Schlangengifte.

Die Analogie der Schlangengifte mit den pflanzlichen Toxinen und ferner besonders mit dem Gift des Aalblutes zeigt sich auch in seiner in vitro wirksamen hämolytischen Funktion.

Auch fehlt bei vielen Schlangengiften die Wirkung in vivo nicht, indem schon FONTANA bei intravenöser Infektion von Viperngift bei Kaninchen Koagulationen u. s. w. beobachtet hatte, und andererseits das Blut gestorbener Tiere ungerinnbar wird, wie FAYRER & LAUDER-BRUNTON[1]), ALBERTONI (l. c.) u. a. fanden, und MOSSO (l. c.) für das Viperngift bestätigte.

Beim Viperngift tritt als sekundäre Erscheinung, auf der Wirkung einer Oxydase beruhend, Methämoglobinbildung ein, die beim Cobrahämolysin fehlt (PHISALIX[2]).

Die Blutwirkung der Schlangengifte ist dann von FLEXNER & NOGUCHI[3]) eines genaueren Studiums gewürdigt worden.

Sie arbeiteten mit den Giften von Naja tripudians, Crotalus adamanteus (Klapperschlange), Ancistrodon piscivorus (Mokassinschlange) und Ancistrodon contortrix, die nur geringe Unterschiede zeigten.

Angewendet wurde Blut vom Hund, Kaninchen, Meerschwein, Schaf, Rind, Schwein, Necturus und Frosch. Die B. K. wurden gewaschen; dann trat reine Agglutination ohne Hämolyse auf. Am empfindlichsten zeigte sich Kaninchen, dann Meerschwein, Hund, Schaf, Schwein und Rind.

Die in defibriniertem Blute zu beobachtende Hämolyse steht in keinem konstanten Verhältnis zur Agglutination der gewaschenen B. K. Bei 0° lassen sich die Hämolyse und die Agglutination getrennt beobachten, da diese letztere von der Temperatur nicht abhängt.

Bei der Hämolyse ist Cobragift das stärkste, das der Klapperschlange das schwächste Agens. Hundeblut ist am empfindlichsten, Rinderblut am wenigsten, wenn man von dem fast absolut refraktären Froschblut absieht.

Die Hämolysine sind gegen Erwärmen recht beständig. 70—80° schaden gar nichts, selbst 100° in 15 Min. wirken nur schwach schädigend.

---

1) FAYRER & LAUDER-BRUNTON, On the Nature of the Poison of Naja tripudians etc. Proc. Roy. Soc., 21, 371 (1873), 22, 68 (1874).

2) PHISALIX, Action du venin de vipère. Soc. Biol., 54, Nr. 27, 1902.

3) FLEXNER & NOGUCHI, Snake venom in relation to haemolysis. Journ. of exper. Med., VI, 277 (1902). S. A.

Sie erinnern also an die wärmebeständigen Bakterienlysine, dagegen werden die Agglutinine bei 75—80 in 30 Min. zerstört. Auch mit $^1/_{18}$ Norm. HCl kann man das Hämolysin $^1/_2$ St. auf 100° erhitzen. Dagegen wird das Lysin durch dieselben chemischen Einflüsse wie die toxische Komponente zerstört (KYES & SACHS s. u.).

Das hämolytische Prinzip ist von dem eigentlichen Nervengift durchaus verschieden. Die durch Gehirnbrei atoxisch gemachte Giftlösung hat alle lytischen Eigenschaften behalten und wirkt dadurch noch giftig. Behandelt man es dann noch mit B. K., so wird es bei der Cobra, wo kaum Hämorrhagin vorhanden ist, fast völlig entgiftet. Bei der Immunisierung entsteht aber neben dem Antitoxin auch das Antilysin, so dass Antischlangenserum auch die Hämolyse aufhebt.

Die Hämolyse tritt nur bei Gegenwart von frischem Serum auf, dies ist auch für das Hämolysin des Viperngiftes von PHISALIX[1]) bestätigt worden. Das Serum enthält ein Komplement, das Schlangengift einen (hitzebeständigen) Amboceptor. Das Schlangenhämolysin ist also kein einfaches Lysin, wie Ricin, Staphylotoxin u. s. w., sondern ein Haptin zweiter Ordnung.

Es enthält eine Reihe verschiedener Ambozeptoren, die sich an verschiedene B. K., nach der EHRLICHschen Methodik, binden, aber niemals wird das Gift dadurch gänzlich erschöpft. Diese Ambozeptoren zeigen wieder verschiedene Affinität gegen verschiedene normale Komplemente, so dass die mannigfachsten Kombinationen bald voll, bald schwach oder gar nicht wirksam sind.

Wird das Blut erst durch Ricin agglutiniert, so wirkt das Schlangengift doch hämolytisch, indem die farblosen Stromata agglutiniert bleiben.

Das Gift hat ferner noch die Eigenschaft, die baktericide Funktion der normalen Sera aufzuheben, wenn $^1/_{20}$ mg auf 1 cm³ Serum kommen. Nur beim Necturusserum ist diese Wirkung inkonstant, die beruht auf einer Inanspruchnahme der Komplemente, die beim Necturus sich nicht stets binden.

In einer späteren Arbeit haben dann FLEXNER & NOGUCHI[2]) das Studium des Schlangenhämolysins fortgesetzt. Das frische Schlangengift selbst enthält kein Komplement, es bewirkt also bei gewaschenen B. K. nur Agglutination, nie Hämolyse.

Wohl aber enthalten die Schlangensera selbst bisweilen passende Komplemente. Die Schlangengifte enthalten verschiedenartige Ambozeptoren, die bald mehr Verwandtschaft zum Komplement des eigenen, bald zu denen fremder Sera haben. Sie sind verwandt mit den Ambozeptoren der Schlangensera, doch nicht stets identisch; letztere sind u. a. stets isokomplementophil.

---

[1]) PHISALIX, Action du venin de vipère etc. Soc. Biol., 54, Nr. 27 (1902).

[2]) FLEXNER & NOGUCHI, The constitution of snake venom and snake sera. Univ. of Pennsylv. Med. Bull., Nov. 1902. S. A.

Während also die andern Gifte nur mit Hilfe der Serumkomplemente lösen, bewirkt Cobragift stets, auch nach noch so sorgfältigem Waschen, teilweise Lysis. Dieser Umstand und ferner, dass Cobragift auch von erwärmten, also komplementfreiem Serum aktiviert wird, führte zu der Annahme eines in den B. K. selbst sich befindenden Endokomplementes für das Cobragift. Diese Annahme ist gleichzeitig von Kyes[1]) und Kyes & Sachs[2]) im Ehrlichschen Institut bestätigt, und es sind dabei außerordentlich interessante neue Beziehungen des Schlangengiftes zu chemischen Stoffen der Blutkörper aufgefunden worden. Kyes fand zunächst, dass es zwei Arten von B. K. giebt, nämlich einerseits solche, die an sich von Cobragift gelöst werden, wie z. B. Meerschwein, Hund, Mensch, Kaninchen, Pferd, und andere, die nur unter Beihilfe eines Komplements gelöst werden, wie Rind, Hammel, Ziege. Für diese fand nun Kyes passende Komplemente und konnte so Flexners Annahme einer komplexen Struktur des Cobralysins bestätigen.

Für die an sich löslichen konnte Kyes die Annahme eines einfachen Lysins nach dem Schema des Ricins dadurch ausschließen, dass in konz. Giftlösungen die Hämolyse ausblieb, während sie in verdünnten eintrat, was bei einfachen Giften natürlich ausgeschlossen ist. Eine derartige Abnahme der Wirkung überschüssiger Gifte ist eben nur durch die Annahme der Komplementablenkung durch überschüssige Ambozeptoren zu erklären, wie sie zuerst von Neisser & Wechsberg[3]) gezeigt worden ist.

Es zeigte sich, dass die B. K. selbst ein Komplement enthalten, das von überschüssigen Ambozeptoren gebunden und abgelenkt werden kann. Dieses Endokomplement geht beim Auflösen der B. K. in Wasser über und dann sind auch die an sich nicht lösbaren B. K. dem Cobragift zugänglich.

Dieses Endokomplement wird bei 62° in $^1/_2$ St. zerstört. Bisweilen lässt es sich auch durch phys. NaCl zum großen Teil aus den B. K. auswaschen. Die Feststellung solcher Komplemente in roten B. K. ist sehr interessant im Hinblick auf die Ansichten der französischen Schule, dass stets die Leukocyten die Quelle der Komplemente sind.

Kyes versuchte ferner die Thatsache zu erklären, warum erhitztes Serum doch noch aktiviert, wo also von Komplementen keine Rede ist; sogar stundenlanges Kochen schadet nichts. Dieser aktivierende Stoff ist Lecithin, das auch in methylalkoholischer Lösung als »Komplement« für das Cobragift fungiert. Beide binden sich so fest

---

[1]) Kyes, Ueb. d. Wirkungsweise des Cobragiftes. Berl. klin. Woch., 1902, Nr. 38/39. S. A.

[2]) Kyes & Sachs, Zur Kenntn. d. Cobragift aktivierenden Subst. Berl. klin. Woch., 1903, Nr. 2—4. S. A.

[3]) Neisser & Wechsberg, Ueb. d. Wirkungsart bakterizider Sera. Münch. med. Woch., 1901, Nr. 18. S. A.

miteinander, dass zugesetzter Aether fast kein Lecithin aufnimmt. Diese Verbindung wirkt intensiv hämolytisch schon bei 0°. Das Lecithin der Sera ist mehr oder weniger fest an Eiweiß gebunden, so dass man verschieden lange erhitzen muss, um wirksames freies Lecithin zu erhalten. Mit dem eigentlichen thermolabilen Komplement der Sera hat das Lecithin gar nichts zu thun, wie KYES & SACHS noch ausführlicher beweisen.

Sie fanden z. B. das eigentliche Komplement als durch Papaïn und Aether zerstörbar; ferner zeigen aktive komplettierende Sera hemmende Aktion gegen Lecithin.

Wohl aber sind die sogenannten Endokomplemente auch nichts weiter als Lecithin, dessen Thermolabilität in den B. K. durch Bindung an das Hämoglobin vorgetäuscht wird; Ausschwemmungen aus hämoglobinbefreiten Stromata zeigen die Labilität nicht.

Durch ihren Lecithingehalt wirken auch Galle und erhitzte Milch aktivierend, ferner das ähnliche Kephalin. An sich wirken beide Stoffe sehr schwach hämolytisch. Wahrscheinlich ist der Fettsäurerest die schließlich wirkende, hämolytische Gruppe.

Als Gegenmittel gegen die Lecithinaktivierung erwies sich das Cholesterin, das auch in den normalen Seris schützend wirkt, und das, wie oben erwähnt, auch die toxische Komponente des Schlangengiftes beeinträchtigt (PHISALIX). Es wirkt also ähnlich antihämolytisch wie gegen Saponin (RANSOM[1]).

Dagegen hat das Cholesterin keine Wirkung auf die echten Komplemente der aktivierenden Sera.

Die Ambozeptoren des Cobragiftes und das Lecithin binden sich nach quantitativen Gesetzen.

Die von FLEXNER & NOGUCHI angegebene Nichtauflösung aller gewaschenen B. K. scheint auf einer Ausschwemmung des Lecithins durch zu reichliches Waschen zu beruhen.

KYES[2]) gelang es sogar, diese »Lecithide« der Cobraambozeptoren zu isolieren.

Die 1proz. Lösung des Cobragiftes wurde mit einer Lösung von reinstem Lecithin in Chloroform 2 Stunden geschüttelt. Wird dann die Chloroformschicht scharf abcentrifugiert, und die Lecithinlösung mit Aether versetzt, so fällt das Cobragiftlecithid aus, während das Lecithin in Aether löslich bleibt.

An dieses Lecithid ist nun die hämolytische Funktion des Cobragiftes quantitativ gebunden, während die neurotoxische dadurch nicht im ge-

---

[1]) RANSOM, Saponin und sein Gegengift. Dtsch. med. Woch., 1901, 194.

[2]) KYES, Ueber die Isolierung von Schlangengiftlecithiden. Berl. klin. Woch., 1903, Nr. 42/43.

ringsten beeinflusst wird. Das Lecithid hat nur hämolytische Funktion, während das zurückbleibende Gift ausschließlich die neurotoxische Kraft behalten hat.

Das Lecithid ist unlöslich im Aether und Aceton, löslich in Chloroform, Alkohol und Toluol, sowie sehr leicht in Wasser. Es unterscheidet sich also auf das schärfste von den Eigenschaften der beiden Komponenten. Beim Stehenlassen der Wasserlösung wird es allmählich unlöslich, ohne seine hämolytische Kraft zu verlieren. In warmem Wasser bleibt es löslich. Es giebt keine Biuretreaktion. Das Lecithid löst alle B. K. gleichmäßig, und zwar ohne Inkubationszeit, im Gegensatz zu der Wirkung des Giftes selbst. Das Lecithid ist gegen 100° fast unempfindlich. Cholesterin hemmt seine Wirkung gerade wie die des frischen Giftes. Ganz analoge Lecithide ergaben sämtliche untersuchten hämolytischen Schlangengifte, u. a. Bothrops, Naja Haje, Bungarus, Trimeresurus und Crotalus. Es findet sich also überall die gleiche lecithinophile Gruppe, wenn auch sonst die Ambozeptoren verschieden sein mögen.

Leukocidin der Schlangengifte.

Sterile Exsudate, die 20—25% Lymphocyten enthielten, wurden durch intrapleurale Injektion von abgetöteten Leibern von Bac. Megatherium erhalten (Flexner & Noguchi).

Cobragift wirkt bei 0,002%, die anderen schwächer. Die Beweglichkeit der Leukocyten hört auf; dann zerfallen die Zellen, am letzten die Lymphocyten. Bei gewaschenen Leukocyten tritt wieder fast nur Agglutination auf. Die Agglutinine sind, wie Flexner & Noguchi aus Bindungsversuchen entnehmen, identisch, die Lysine verschieden von den entsprechenden Agentien der roten B. K. Auch das Leukolysin ist komplex gebaut.

Zusammenfassung.

Wir haben also in den Schlangengiften 4 unabhängige, an Menge stark wechselnde aktive Prinzipien.

1. Hämagglutinine. Durch 0,2% HCl in 24 St., durch Erwärmen auf 75° in kurzer Zeit zu zerstören.

2. Hämorrhagin (hauptsächlich bei Crotalus). Erst durch 2% HCl und Pepsin-HCl nach ca. 2 Tagen zerstört, im Brutschrank beständig.

3. Hämolysin. 0,3% HCl zerstört sehr langsam, Pepsin-HCl schnell. Brutschranktemperatur zerstört ca. 80%.

4. Neurotoxin. Gegen HCl bis 3%, gegen Pepsin und Papaïn ziemlich beständig; beim einfachen Stehenlassen in 19 Tagen zu 90% entgiftet.

Das Hämagglutinin und Hämolysin greifen ausschließlich die Blutkörperchen an, das Hämorrhagin die Endothelien der Gefäßwände, das Neurotoxin die Zellen des Zentralnervensystems.

Die Immunisierung gegen Schlangentoxin.

Das Antischlangentoxin.

Die enge Zusammengehörigkeit der Schlangentoxine mit den echten Toxinen zeigt sich vor allem in der Fähigkeit, ein Antitoxin zu erzeugen. Die erste Angabe über eine Immunisierung gegen Schlangengift rührt von SEWALL[1]) her, der mit Crotalusgift immunisierte.

CALMETTE konnte zeigen, dass schon nach der einmaligen Injektion von $^1/_2$ Dosis letalis das Serum der Tiere eine deutliche antitoxische Wirkung in vitro hat. Auch FRASER[2]) gelang die Erzeugung von Antitoxin gegen die Gifte der Cobra, Crotalus, Diemenia (Südaustralien) und Sepedon (Afrika). Er erhielt Resistenz bis gegen die 50fach tödliche Dosis.

CALMETTES Verfahren war ungefähr folgendes:

Man beginnt mit ca. $^1/_{20}$ der tödlichen Dosis und giebt dann alle 2—3 Tage ganz langsam steigende Dosen (bis $^1/_{10}$), unter sorgfältiger Kontrolle des Gewichtes. Sobald die Tiere abmagern, muss man die Injektionen suspendieren. Auch mit chemisch geschwächten Giften (durch Goldchlorid oder Chlorkalk) gelingt es (CALMETTE[3]).

Nach 4—5 Wochen vertragen die Tiere die doppelte Dosis letalis. Nun kann man ihnen alle 8—10 Tage größere Dosen applizieren. So kann man die Immunität recht hoch treiben. CALMETTE hat in einem Jahre ein Kaninchen so weit gebracht, dass es 80 tödliche Dosen (40 mg) Cobragift ohne jede Reaktion vertrug. Das Serum dieses Tieres war so reich an Antitoxin, dass 5 Tropfen (ca. 0,25 cm³) 1 mg Cobragift neutralisierten. Ein Esel bekam 0,2 g Cobragift in 3 Monaten, ein andrer 0,16 in 2 Monaten. Das Serum neutralisierte zu 0,5 cm³ 1 mg Gift.

4 cm³ dieses Serums schützten bei Injektion 4 Stunden vorher gegen die doppelte tödliche Dosis. Nach PHISALIX & BERTTAND[4]) ist das Antitoxin dagegen (beim Viperngift) erst 36—48 St. nach der Einführung in den Körper wirksam. Wenn man eine sicher tödliche Menge injiziert und 1 Stunde darauf 4—5 cm³ dieses Serums, bleibt das Tier in der Regel leben, jedoch ist $1^1/_2$ Stunde das Maximum der Zeit, wenn die Heilung einigermaßen sicher sein soll.

Dieses Anticobraserum schützt nun aber auch in derselben Weise gegen die neurotoxische Komponente der anderen

---

[1]) SEWALL, Exper. on the preventive inoculation of rattle-snake venom. Journ. of Phys., VIII, 203 (1887).

[2]) FRASER, Immunity against snake poison. Brit. Med. Journ., 1895, I, 1309.

[3]) CALMETTE, Propriétés du sérum des animaux immunisés contre le venin des serpents. Compt. rend. de l'Acad., 118, p. 120, 1004 (1894).

[4]) PHISALIX & BERTRAND, Sur la propriété antitoxique du sang des animaux vaccinés contre le venin de vipère. Compt. rend. de l'Acad., 118, 356 (1894).

Schlangen, außerdem auch gegen das Skorpionengift und das Aalblut, sowie etwas gegen Abrin, ist unwirksam dagegen gegen Ricin, Diphtherie- und Tetanusgift.

Das Serum wirkt wohl gerade so antitoxisch, wie die echten Antitoxine, doch beobachtete andererseits CHATENAY (cit. n. CALMETTE l. c.) eine Hyperleukocytose bei Einführung des Giftes in immunisierte Tiere, während bei Kontrolltieren eine Hypoleukocytose zu konstatieren ist.

Diese Beobachtungen wurden von CALMETTE und DÉLÉARDE bestätigt. Sie fanden, dass mit Abrin vergiftete Tierkohle, in die Peritonealhöhle eingeführt, bei immunen Tieren massenhaft von Leukocyten aufgenommen wird, bei Kontrolltieren so gut wie gar nicht. Sie nehmen an, dass die Leukocyten Antitoxin bilden und aufspeichern.

Nach PHISALIX & BERTRAND [1]) sollen außer dem Kaninchen auch Meerschweinchen, Pferd, Igel normale Antisera geben, das Huhn dagegen nicht.

Die passive Immunität verschwindet schnell, die aktive um so langsamer, je höher sie war. Die Immunität ist vererbbar.

Jede der drei Giftkomponenten (Hämolysin, Neurotoxin, Hämorrhagin) erzeugt bei der Immunisierung seinen spezifischen Antikörper. Infolgedessen sind die verschiedenen Antisera sehr verschieden wirksam.

Dass es gegen das Hämolysin Antisera giebt, resp. dass die gewöhnlichen Antisera auch Antihämolysine enthalten, fanden STEPHENS & MYERS [2]), doch sind auch hier noch nach FLEXNER & NOGUCHI (l. c.) die Antisera verschieden wirksam, da die Hämolysine noch wieder verschiedenartige Ambozeptoren besitzen und das Antigift durch Antiambozeptoren wirkt.

Das Anticobragift enthält Antitoxin gegen das Neurotoxin, und zwar das Neurotoxin der verschiedensten Schlangengifte (MC FARLAND [3]), und das Hämolysin, dagegen fehlt ihm der Antikörper gegen das Hämorrhagin der Crotalus völlig; da nun das Crotalusgift hauptsächlich dadurch wirkt (s. o.), so ist CALMETTES Antivenin gegen Crotalusgift machtlos.

Umgekehrt enthält dementsprechend das Anticrotalusserum hauptsächlich Antihämolysin und Antihämorrhagin, kein Antineurotoxin; demzufolge hebt es zwar die hämolytische, nicht die neurotoxische Funktion des Cobragiftes, also nicht seine allgemeine Giftigkeit auf.

Bei denjenigen Giften, die beide giftige Hauptkomponenten enthalten, wie die Mokassin- und Copperheadschlange, enthalten natürlich auch die Antisera beide spezifische Antikörper.

---

1) PHISALIX & BERTRAND, Soc. Biol., 48, 396 (1896).

2) STEPHENS & MYERS, Proc. Path. Soc. Lancet, 1898, I, 644.

3) MC FARLAND, Some investigations upon antivenene. Journ. Amer. Med. Association, Dec. 1901. Ref. C. f. Bakt., 31, 792.

Das Antischlangengiftserum scheint, nach allem, was darüber bekannt geworden ist, ganz analog den anderen Antitoxinen zu wirken, d. h. es bindet, neutralisiert das Gift, ohne es zu zerstören. Einen sehr interessanten Beleg für diese Annahme liefert der schon im allgemeinen Teil gestreifte Versuch von Calmette (1895). Er fand nämlich, dass aus einem physiologisch neutralen Gemisch von Schlangentoxin und Antitoxin durch Erwärmen auf 68° das Antitoxin fortgenommen werden kann, ohne das Toxin zu schädigen, so dass die ursprüngliche Giftwirkung wieder hervortritt. Nach dem Erwärmen verhielten sich die Gemische völlig gleich toxisch, ob er Antiserum oder normales Serum zugesetzt hatte. Umgekehrt konnte er in dem Gemisch durch Chlorkalk das Toxin entfernen, so dass das vorher neutrale Serum wieder schützend wirkte (1896). Diese Thatsachen, die eine große theoretische Bedeutung besitzen, sind von Martin & Cherry[1]) bedingt bestätigt worden, die durch Erwärmen auf 68° eine Trennung des Giftes von Hoplocephalus curtus von dem Antitoxin unter bestimmten Bedingungen erzielen konnten.

Wenn man nämlich das Gemisch nur kurze Zeit aufeinander wirken lässt, oder relativ viel Gift anwendet, dann ist Calmettes Versuch richtig; das Antitoxin wird zerstört, die Giftwirkung stellt sich beim Erwärmen wieder her. Nach 15 Minuten indessen ist die Bindung schon so fest, dass sie sich nicht mehr trennen lässt. Dagegen lässt sich eine Trennung durch Filtration durch Gelatinefilter unter Druck, die sonst das freie Toxin, nicht aber das Antitoxin passieren lassen, nicht erzielen, da aus dem Gemisch nichts hindurchfiltriert.

Die Annahme einer einfachen Bindung wird auch dadurch nicht beeinträchtigt, dass nach Martin die Dosis, die in vitro eine bestimmte Menge Schlangengift bindet, viel geringer ist als diejenige, die man zur vorherigen Immunisierung braucht, wenn man subkutan injiziert. Die Menge ist beträchtlich größer, einmal sogar war die tausendfache Menge erforderlich. Dagegen ist bei intravenöser Injektion nur etwa dieselbe Menge erforderlich.

Martin führt dies darauf zurück, dass bei subkutaner Einführung das Antitoxin viel langsamer diffundiert, als das Toxin, das auch bei unterbundenen Lymphwegen sich sehr schnell im Körper verbreitet.

Merkwürdig sind die Angaben von Calmette (1895), dass auch Antitetanustoxin und Antiabrin eine gewisse Wirkung auf das Schlangentoxin ausüben, so dass das Serum also nicht absolut spezifisch wäre. Dagegen erwiesen sich die Sera von Tieren, die mit Strychnin, Curare und verschiedenen Bakterien behandelt waren, als absolut machtlos gegenüber dem Gift, ebenso normales Menschenserum.

Das Antischlangengiftserum wird erst bei 68° unwirksam. Chlor-

3) Martin & Cherry, The nature of antagonism between toxins and antitoxins. Proc. Roy. Soc., 63, 420. — Martin, Relation of the toxin and antitoxin of snake-venom. Ibid., 64, 88 (1899).

kalk und Goldchlorid beeinträchtigen seine schützende Wirkung nicht. Es ist auch ohne Phenolzusatz lange haltbar.

Calmette[1]) hat für die Wertbestimmung des Schlangenserums folgende Methode vorgeschlagen:

Das Gift wird getrocknet, in destilliertem Wasser gelöst; die Dosis letalis für ein kg Kaninchen bestimmt. Dann giebt man einem 2 kg schweren Kaninchen steigende Mengen des zu prüfenden Serums und bestimmt die schützende Dosis gegen die einfache Dosis letalis. Als Einheit gilt ein Serum, von dem 1 cm^3 1 g Tier gegen die einfache Dosis letalis schützt. Schützt 1 cm^3 also 2 kg, so ist das Serum also ein 2000faches. Das mindeste muss nach Calmette 1000fach sein; für die Tropen wird mindestens 4000faches angewendet.

Diese echte antitoxische Eigenschaft des Immunserums hat nichts zu thun mit der Unschädlichmachung des Toxins durch Tyrosin, Cholesterin, Galle u. s. w., denn alle diese Stoffe wirken genau wie beim Tetanustoxin nur in vitro giftbindend, niemals aber immunisierend. Sie haben also mit dem echten Antitoxin nichts zu thun.

Etwas anders ist die Frage, ob nicht vielleicht das Serum und die Galle der Giftschlangen Antitoxin enthält. Wie Fraser[2]) fand, ist es ja besonders die Galle der Cobra, aber auch der Klapperschlange u. s. w., die ganz unvergleichlich größere giftzerstörende Kraft besitzt, als die Galle anderer Tiere; aber auch die Galle ungiftiger Schlangen besitzt immer noch eine stärkere Schutzkraft. Auch Alkoholfällungen dieser Gallen besitzen noch die Schutzwirkung. Andererseits ist jedoch zu bedenken, dass, wie Fraser[3]) selbst fand, das Antigift nicht gerade spezifisch ist, sondern auch auf Bakterientoxine wirkt.

Wir finden auch andererseits häufig, dass die Galle auf Toxine gerade so einfach zerstörend einwirkt, wie die anderen Verdauungssäfte, so dass die Frage, ob die Galle ein echtes Antitoxin enthält, noch nicht entschieden ist.

Deshalb kann man wohl auch kaum die Resistenz der Schlangen auf diese Funktion allein beziehen. Es wäre ja denkbar, dass die natürliche Immunität dieser Tiere auf einer konstanten Neubildung reichlicher Antitoxinmengen beruht, als einer ständigen Reaktion auf resorbierte Giftmengen. Im wesentlichen wird dieser Zustand aber doch wohl auf angeborenen Mangel an Rezeptoren beruhen; denn wir sehen ja, dass auch das Blut der Giftschlangen toxisch ist.

---

1) Calmette, Sur le venin des serpents. Ann. Past., XI, 214 (1897).

2) Fraser, The treatment of snake poisoning with antivenene. Brit. Med. Journ., 1895, II, 417. — Antivenemous properties of the bile of serpents. Ibid., 1897, II, 125.

3) Fraser, Antitoxic qualities of the bile of serpents. Brit. Med. Journ., 1897, II, 595.

Auch der Igel, der ja einigermaßen refraktär ist, scheint dies hauptsächlich dadurch zu sein, dass er wenig Rezeptoren besitzt; auch sein Blut ist nach Gifteinfuhr toxisch. Beim Igel liegen hier die Dinge ähnlich, wie für den Alligator beim Tetanus; denn der Igel, obgleich wenig empfänglich, bildet doch ziemlich beträchtliche Mengen Antitoxins. Er scheint also zwar Rezeptoren zu besitzen, aber wohl zum großen Teil an minder lebenswichtigen Organen. Andererseits fand Calmette (1895), dass das Serum des Schweines und das der Manguste äußerst wenig Antitoxin enthält, obgleich beide Tiere fast völlig refraktär gegen Schlangengift sind.

So wird denn wohl auch bei den Schlangen selbst die Sachlage sein. Die Hauptursache ihres refraktären Verhaltens dürfte angeborener Rezeptorenmangel, resp. Vorhandensein zerstreuter Rezeptoren sein; daneben ist es allerdings nicht unwahrscheinlich, dass sie auch Antitoxin produzieren, und dies mit der Galle ausscheiden.

Das Krötentoxin (Phrynolysin).

Einige Kröten enthalten in ihrer Haut und im Blute neben den genauer bekannten alkaloïdähnlichen Giften (Bufotalin u. s. w.) noch ein anscheinend echtes hämolytisch wirkendes Toxin.

Phisalix & Bertrand[1]) haben wohl zuerst auf das Vorhandensein eines zweiten Giftstoffes hingewiesen und Pugliese[2]) hat die Hämolyse beobachtet.

Genauer untersucht wurde das »Phrynolysin« von Pröscher[3]).

Pröscher benutzte vor allem Extrakte aus der Haut der Feuerkröte, Bombinator igneus, daneben auch die Gartenkröte, Bufo cinereus.

Das Phrynolysin zeigt alle Eigenschaften der Toxine, besonders ihre große Empfindlichkeit, und dialysiert nicht. Es wird ziemlich schnell unwirksam.

Es hämolysiert, und zwar in neutraler und ganz schwach saurer Lösung gleichmäßig, am besten Hammelblut, dann folgt Ziege, Kaninchen, Hund, Ochse, Huhn, Meerschweinchen, während es auf Taube, Frosch und Kröte fast gar nicht wirkt.

Bei Hammelblut genügen ca. 0,3 mg um einen Liter komplett zu lösen.

Ein Grund, für das Phrynolysin eine komplexe Struktur anzunehmen, liegt bisher nicht vor.

Normale Sera enthalten keinen Antikörper. Durch Immunisierung lässt sich hingegen ein Antilysin erzeugen, das in einer Dosis von 0,025 cm^3 gegen die für 1 cm^3 5 % Hammelblut lösende Dosis schützt.

---

1) Phisalix & Bertrand, Recherch. s. la toxicité du sang du crapaud commun. Arch. d. phys., 25, 517 (1893).

2) Pugliese, Arch. d. farm., 1898. Cit. n.

3) Pröscher, Zur Kenntnis des Krötengiftes. Hofm. Beitr., I, 575 (1901).

Salamandergift.

Einen antitoxinbildenden Giftstoff fand PHISALIX[1]) auch in dem japanischen Salamander (Sieboldia maxima), und zwar ebenfalls in der Rückenhaut.

Das Gift ist in Wasser und Glycerin löslich, und sehr wenig beständig. Bei 60° wird es in 20 Min. komplett zerstört, ebenso durch Alkohol.

Seine Wirkungen am Frosch sind Oedeme, Hämorrhagieen, bei Warmblütern auch Nekrosen. Ferner treten Lähmungen ein, die Reizbarkeit erlischt langsam; unter Respirationslähmung tritt der Tod ein.

Durch Erwärmen auf 50° wird das Gift geschwächt, behält aber seine immunisierende Kraft. Die so behandelten Tiere vertragen dann weit größere Dosen des Giftes, aber auch von Vipergift und Aalgift (PHISALIX[2]), woraus auf eine gewisse Verwandtschaft dieser Toxine geschlossen werden darf.

Das Spinnengift.

Die giftigen Spinnen spielen in dem Volksglauben eine große Rolle. Eine große Anzahl von Spinnen ist der Giftigkeit angeklagt worden, so besonders die Tarantel u. a.

Dagegen war wissenschaftlich über die Spinnengifte bis auf die umfassende Monographie von KOBERT[3]) nur wenig bekannt.

KOBERT konnte nachweisen, dass grade den am meisten beschuldigten Spinnen, besonders den Taranteln, kein spezifisches Gift zukommt. Es fanden sich eigentlich nur in zwei Spinnengattungen wirkliche Gifte, und zwar in Lathrodectes und Epeira (Kreuzspinne).

Die Lathrodectes sind über den ganzen Erdball verbreitet. Am wichtigsten sind die Arten von Italien (L. tredecimguttatus, Malmignatte) und von Südrussland (L. Erebus, Karakurte), sowie Neuseeland (L. scelio und Hasseltii, Katipo), und Südamerika (L. mactans). Die Giftigkeit der Malmignatte ist schon 1765 von VALMONT DE BOMARE beschrieben, und seitdem häufig beobachtet worden. Auch Tierversuche wurden angestellt.

Ueber die russische Spinne stellt KOBERT eine Reihe von Berichten zusammen, aus denen hervorgeht, dass die Lathrodectes nicht nur bei Rindern, Pferden und Kamelen viel Schaden stiftet, sondern auch Menschen tötet. Die Erscheinungen sind sehr schwere: heftige

---

[1]) PHISALIX, Act. phys. du venin du Salamandre. Soc. Biol., 49, 723 (1897).

[2]) PHISALIX, Propr. immunisantes du venin du Salamandre. Soc. Biol., 49, 823 (1897).

[3]) KOBERT, Beitr. z. Kenntn. d. Giftspinnen. Stuttgart 1901. (Dort die ganze ältere Litteratur von den frühesten Zeiten ab.) Und: Giebt es für den Menschen gefährliche Spinnen? Die Medic. Woche, 1902, S. 154.

Schmerzen, Priapismus, Schlaflosigkeit, große Prostration, kalter Schweiß, Fieber, Dyspnöe. Die Erscheinungen ähneln im großen und ganzen sehr denen der Vergiftung durch Bakterientoxine. An der Bissstelle finden sich keine auffallenden Veränderungen. Die Rekonvaleszenz dauert sehr lange. Todesfälle sind immerhin selten.

Kobert hat mit Auszügen von taurischen Katakurten eigene Versuche angestellt.

Er benutzte dazu wässrige Extrakte teils frischer, teils schonend getrockneter Tiere.

Die Extrakte erwiesen sich als sehr giftig; die Wirkung entsprach genau der an Menschen beobachteten. Einige mg pro kg organischer Substanz intravenös führten bei Hunden und Katzen schnellen Tod herbei, unter Dyspnöe, Konvulsionen, Lähmung der Respiration und des Herzens. Auch Kaninchen, Ratten und Vögel sind zu vergiften. Der Igel ist etwas resistenter. Auch Frösche und Blutegel sind empfindlich. Vorder- und Hinterteilextrakte wirken ziemlich gleichmäßig. Neugeborene Spinnen sind giftiger als ausgewachsene, auch die Eier sind giftig. Auf das isolierte Froschherz wirkt das Gift schon bei 1 : 100000 deletär.

Kobert konnte ferner bei seinen Versuchstieren bei vorsichtiger Eingabe eine Immunität erzielen, so dass das Karakurtengift thatsächlich ein Toxin zu sein scheint. Kochen macht das Gift völlig unwirksam, ebenso Alkohol. Per os ist es wirkungslos. Das Gift wirkt auch hämolytisch und gerinnungsbefördernd.

Die Lathrodectes enthält demnach ein echtes Toxin, das auf Herz und Zentralnervensystem manchmal erst erregend, dann jedenfalls lähmend einwirkt.

Arachnolysin.

Von einheimischen Spinnen scheint Chiracanthium nutrix ein Gift zu enthalten, das aber noch nicht untersucht ist.

Dagegen fand Kobert in der gewöhnlichen Kreuzspinne, Epeira diadema, ein dem Lathrodectesgift völlig anologes Toxin, das ebenfalls sehr giftig ist, und gegen das man immunisieren kann. Es ist etwas weniger wirksam, aber beständiger als das Karakurtengift.

Die Extrakte anderer einheimischer Spinnen sind wirkungslos.

Das Gift der Kreuzspinne hat nach Kobert auch hämolytische Eigenschaften, die von Hans Sachs[1]) dann mittelst der Ehrlichschen Methodik genauer studiert worden sind.

Das Arachnolysin löst sehr schnell und intensiv, doch sind die B. K. der einzelnen Tierarten sehr verschieden resistent. Am empfindlichsten ist Ratten- und Kaninchenblut. 0,028 mg lösen 0,05 cm^3

---

[1]) Sachs, Zur Kenntnis des Kreuzspinnengiftes. Hofm. Beitr., II, 125 (1902).

Blut komplett. Dagegen sind Meerschwein, Pferd, Hammel und Rind völlig resistent.

B. K. ganz junger Hühner sind nach SACHS[1]) infolge totalen Rezeptorenmangels völlig unempfindlich. Erst wenn diese ersten B. K. allmählich verschwinden, tritt Wirkung ein, bis nach 2—4 Wochen die normale Empfindlichkeit des Hühnerblutes erreicht ist.

Das Toxin ist gegen Erwärmen nicht sehr empfindlich, wird erst bei 70° in 40 Min. zerstört.

Die unempfindlichen B. K. binden das Gift nicht, so dass dieses Lysin sich durchaus den anderen Haptinen anschließt. Damit stimmt überein, dass das Arachnolysin von den Stromata empfindlicher B. K. gebunden wird. Durch Immunisierung von Meerschweinchen und Kaninchen konnte SACHS ein hochwertiges antitoxisches Serum herstellen, das bei Mischung mit dem Gift auch die Hämolyse hindert. Da nun Meerschweinchenblut unempfindlich ist, keine Rezeptoren enthält, so muss das Antiarachnolysin aus anderen Rezeptoren gebildet sein. Da es trotzdem auch antilytisch wirkt, so gelten für seine Konstitution vermutlich dieselben Erwägungen, wie für das Ricin (s. d.), mit dem es große Aehnlichkeit besitzt.

Skorpionengift.

VALENTIN[2]) untersuchte 1874 einen tunesischen Skorpion (Androctonus occitanus Claus) auf die Giftigkeit seines Schwanzendes.

Kleinere Frösche starben meist an dem Stich, größere nicht. Es traten tetanische Krämpfe auf, ferner fibrilläre Zuckungen, allmählich schwindet die Reflexerregbarkeit von hinten nach vorn.

Später liegen u. a. Befunde von BERT[3]) vor, die ganz ähnliche Beobachtungen über das Gift enthalten.

CALMETTE fand (1895) bei Scorpio afer im Schwanzsegment ein Gift, das er aus den zerriebenen Leibern mit Wasser extrahierte und im Vacuum eintrocknete.

Das Gift tötet Mäuse zu 0,05, Meerschweinchen zu 0,5 unter ganz ähnlichen Erscheinungen wie das Schlangengift.

Es verhält sich auch in jeder anderen Beziehung, besonders aber auch gegen das Antitoxin so völlig analog dem Schlangentoxin, dass man wohl anzunehmen berechtigt ist, dass das Skorpionengift sich nicht anders von den Schlangengiften unterscheidet, wie diese untereinander, dass es also wohl auch das Neurotoxin der Schlangen neben geringfügigen fremden Beimengungen enthält, wie die verschiedenen Schlangen-

---

1) SACHS, Ueber Differenzen der Blutbeschaffenheit in verschied. Lebensaltern. C. f. Bakt., 34, 686 (1903). S. A.

2) VALENTIN, Ueb. d. Giftw. d. nordafrik. Skorpiones. Z. f. Biol., XII, 170 (1876).

3) BERT, Soc. Biol., 37, 574 (1885).

gifte. Dies wird auch dadurch noch gestützt, dass Kyes (l. c.) aus dem Skorpionengift ein ganz analoges sofort blutlösend wirkendes Lecithid isolieren konnte, wie aus Cobragift. Für den Menschen ist der Skorpionenbiss nur deshalb wenig gefährlich, weil die Menge bei dem Einzelbiss zu gering ist.

Fischgifte.

Ein anderes scheinbar echtes Toxin aus der Giftdrüse des Trachinus draco (Petermännchen) hat Briot[1]) isoliert, dessen Existenz schon vorher bekannt war. Er extrahierte die Giftdrüse mittelst chloroformhaltigen Glycerins und filtrierte die neutrale Lösung.

Das Gift wirkt auf Frösche unter Erregung von Krämpfen und Lähmungen, der Tod tritt unter Prostration auf (Gressin, Bottard, das Herz wird auch direkt schwer geschädigt (Pohl[2]).

Auf Meerschweinchen wirkt es, besonders bei intraperitonealer Injektion, ganz ähnlich energisch, wie auch Phisalix bei Trachinus vipera gefunden hatte, auf Kaninchen weniger heftig. Charakteristisch ist die rapide Lähmung der injizierten Extremität. Bei intravenöser Injektion tritt der Tod fast momentan ein, bei schwächeren Dosen erholt sich das Tier sehr schnell. Das Gift macht bei subkutaner Injektion auch schwere Lokalerscheinungen.

Erhitzen zerstört das Toxin, bei 100° in $1/2$ St., ebenso Chlorkalk und Goldchlorid.

Das Gift wirkt auch hämolytisch. Normales Serum vom Pferde enthält wie gegen Schlangenhämolysin, auch ein Antihämolysin gegen das Trachinuslysin, das bei 50° zerstört wird. Das Lysin ist bei 100° kurze Zeit (20 Min.) beständig.

Das Trachinusgift ist vom Schlangengift verschieden, da es anders wirkt und da ein Antischlangengiftserum weder auf die toxische, noch auf die lytische Funktion einen hindernden Einfluss besitzt.

Man kann Kaninchen gegen das Gift immunisieren, am besten, wenn man mit dem Serum bereits immuner Tiere gemischtes Gift vorsichtig injiziert.

Das Serum enthält ein spezifisches Antitoxin, das allerdings gegen die lokalen Erscheinungen nicht konstant schützt.

---

[1]) Briot, Études sur le venin de la vive (Trachinus draco). Journ. de phys. et pathol., 1903, 271. S. A.

Briot giebt dort folgende Quellen über giftige Fische:

Gressin, Contrib. à l'étude de l'appareil à venin chez les poisons du genre vive. Thèse Paris, 1884.

Bottard, Les poisons vénimeux. Thèse Paris, 1884.

Phisalix, Bull. du museum d'histoire natur., 1899.

Contière, Les poisons vénimeux. Thèse Paris, 1899.

Weiteres s. b. Kobert, l. c.

[2]) Pohl, Prager med. Woch., 1893, S. 31.

Es scheinen auch noch andere Fische toxinähnliche Gifte zu enthalten, die noch nicht untersucht sind, z. B. Neunaugen (Petromyzon), Meersau (Scorpaena), Pterois, Serranus (Schriftbarsch), Plotosus, Synanceia u. a. (KOBERT[1]).

Ob hier wirkliche Toxine eine Rolle spielen, muss späteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.

Bei anderen giftigen Fischen, z. B. bei den japanischen Tetrodonarten (Fugu) scheinen die giftigen Protamine die entscheidende Rolle zu spielen. Näheres über die Giftfische im allgemeinen mitzuteilen, liegt nicht im Plane dieses Buches[2]).

Das Gift des Aalblutes (Ichthyotoxin).

Eine eigentümliche Sonderstellung nimmt ein giftiger Stoff ein, der sich in dem Serum des Aales und einiger verwandter Fische (Muraena, Conger) vorfindet. Durch sein Vorkommen als normales Produkt des tierischen Lebens schließt es sich einerseits an die Schlangengifte an, die sich ja auch im Blute der Giftschlangen vorfinden; andererseits aber erinnert es durch das Hervortreten der hämolytischen Wirkung auch an die agglutinierenden Toxine des Pflanzenreiches und zeigt drittens in dieser Eigenschaft auch eine gewisse Verwandtschaft mit den Hämolysinen der normalen Sera verschiedener Tiere, die nach EHRLICH ja auch nicht einfache »Alexine«, sondern Rezeptoren zweiter Ordnung, mit Amboceptor und Komplement, darstellen.

Wohin also das Ichthyotoxin schließlich zu stellen ist, lässt sich vorderhand noch nicht entscheiden. Aus äußeren Gründen ist es vorläufig wohl am zweckmäßigsten, es im Anschluss an die anderen Zootoxine zu besprechen.

Ein ähnliches Gift scheinen die Seeaale (Muraena) auch in ihren Giftdrüsen zu enthalten, doch ist darüber wenig bekannt[3]).

Die Giftigkeit des Aalblutes ist von A. MOSSO[4]) entdeckt worden, der die toxischen Wirkungen genauer untersuchte. Er fand auch, dass das Blut der vergifteten Tiere seine Gerinnungsfähigkeit einbüßt, was von DELEZENNE[5]) bestätigt wurde, der seine Wirkung mit der der Propeptone verglich. U. MOSSO[6]) hat dann die Eigenschaften dieses Giftes näher untersucht.

---

1) KOBERT, Ueber Giftfische u. Fischgifte. Vortrag i. Rostocker Fischereiverein, 1902. Die Med. Woche, 1902.

2) Man findet Näheres außer bei KOBERT noch bei VAUGHAN & NOVY, l. c., p. 188 ff.

3) Anatomische und toxikologische Daten s. b. KOBERT (l. c.).

4) A. MOSSO, Die giftige Wirkung des Serums der Mureniden. Arch. f. exper. Pathol., 25, 111 (1889).

5) DELEZENNE, Action du sérum d'anguille sur la coagul. du sang. Arch. d. phys., 29, 646 (1897).

6) U. MOSSO, Recherches sur la nature du venin, qui se trouve dans le sang de l'anguille. Arch. ital. d. Biol., XII, 229 (1889).

Dann waren es vor allem KOSSEL[1]) und CAMUS & GLEY[2]), die sich mit dem Aalblutgift beschäftigten, seine blutlösende Wirkung entdeckten und zeigten, dass man dagegen immunisieren kann, dass es ein Antitoxin bildet.

Darstellung und Eigenschaften des Giftes.

CAMUS & GLEY gewinnen das giftige Serum, indem sie das Blut mittelst sterilisierter Pipette aus der Aorta des Aales entnehmen und in sterilisierte Glasgefäße bringen. Dann lässt man entweder einfach absetzen oder centrifugiert. Sie gewinnen so etwa 0,6 ccm Serum auf 100 g Tier.

Das Serum hat eine schwach grünliche Färbung, manchmal gelblich. Es hält sich lange unverändert, wenn man es vor Licht schützt.

Eine Reindarstellung des toxischen Prinzips aus dem Serum ist noch nicht versucht worden.

U. MOSSO stellte fest, dass es genau dieselben physikalischen und chemischen Eigenschaften hat, wie alle Toxine; dass es durch Hitze, Säuren, Alkalien u. s. w. zerstört wird, dagegen das Trocknen im Vacuum verträgt, sowie schließlich, dass es nicht dialysiert. In 90proz. Alkohol ist es unlöslich.

Wirkungen des Aalblutes.

Das Serum verschiedener Aale zeigt häufig beträchtliche Schwankungen im Giftwert, wobei außer der Herkunft der Fische auch die Jahreszeit eine Rolle spielt, wie wir dies auch bei den Schlangengiften finden (WEHRMANN[3]).

Der Flussaal der Ostseeküste enthält nach SPRINGFELD[4]) ein sehr viel schwächer giftiges Serum.

Auch die einzelnen Tierarten sind bei gleicher Art der Einführung (intravenös) verschieden empfindlich. Hunde scheinen am empfänglichsten zu sein (Dosis letalis nach MOSSO 0,02 cm^3 pro kg). Der Igel ist fast refraktär. Vom Magen aus wirkt es nach A. MOSSO gar nicht, wohl aber bei Injektion in den Dünndarm. Doch soll nach PENNAVARIA[5]) ein schwerer Vergiftungsfall beim Menschen nach Genuss des Aalblutes

---

[1]) KOSSEL, Zur Kenntnis der Antitoxinwirkung. Berl. klin. Woch., 1898, 7.

[2]) CAMUS & GLEY vor allem: Recherches sur l'action physiolog. de sérum d'anguille. Arch. internat. de pharmacodynamie, V, 247 (1898). S. A.

Ferner: De la toxicité du sérum d'anguille pour des animaux des espèces differents. Soc. Biol., 1898, 129.

Immunis. contre l'action globulicide etc. Compt. rend., 126, 428 (1898).

Nouvelles recherches sur l'immunité contre le sérum d'anguille. Ann. Past., XIII, 779 (1899).

[3]) WEHRMANN, Sur les propr. toxiques du sang etc. Ann. Past., XI, 810 (1897).

[4]) SPRINGFELD, Ueb. d. gift. Wirkung des Blutserums des Flussaals. Diss. Greifswald 1889.

[5]) PENNAVARIA, Farmacista italiano, XII, 1888, p. 328. Cit. n. KOBERT, l. c.

vorgekommen sein. Subkutane Injektionen machen Nekrosen und Abszesse. Die Vergiftung verläuft je nach der Dosis in zwei verschiedenen Formen. Kaninchen, die 0,1 cm³ pro kg eines sehr wirksamen Serums erhalten, sterben in wenigen Minuten unter Krämpfen, die bisweilen von Speichelfluss und Blut im Urin begleitet sind. Miosis fehlt fast nie, bisweilen tritt Exophthalmus auf.

Es lassen sich die Erscheinungen nach Mosso auf eine einer vorübergehenden Reizung folgende Vagusparalyse zurückführen.

Bei kleinen Dosen oder schwachen Giften bilden sich dagegen Lähmungszustände aus, mit fibrillären Zuckungen, Anästhesieen, Dyspnöe, Speichelfluss, Schreien u. s. w., die erst in Stunden oder gar Tagen (Kossel), dann unter starkem Gewichtsverlust zum Tode führen. Aehnlich verhalten sich Meerschweinchen. Bei letzteren tritt bei sehr großen Dosen der Tod so schnell ein, dass mitunter sogar die Krämpfe fehlen.

Im ersteren Fall treten also die bulbären Symptome, besonders schnelle Lähmung des Atmungscentrums, im zweiten die spinalen mehr in den Vordergrund. Die peripherischen Nerven der Atmung bleiben reizbar.

Beim Frosch konnte A. Mosso zeigen, dass die Reizbarkeit der Nerven und Muskeln schnell abnimmt; es schwindet die Sensibilität, besonders der hinteren Gliedmaßen, vor der Motilität, wahrscheinlich durch Störung der Leitungsbahnen vom Rückenmark zum Gehirn. Das isolierte Froschherz wird nicht tangiert.

Beim Warmblüter steigt der Blutdruck gleich nach der Injektion an, um dann zu sinken. Die Herzaktion verlangsamt sich und wird unregelmäßig; das Herz schlägt aber nach dem Tode noch fort (Bardier[1]). Bei sehr großen Dosen aber fand A. Mosso, dass das Tier sehr schnell an Herzlähmung stirbt, während die Atmung noch minutenlang fortdauert. Auch bei künstlicher Atmung sterben die Tiere (Hunde) an Herzlähmung. Die Autopsie ergiebt Kongestion des Darmtractus, der Lungen, der Nebennieren; schwere Nierenläsionen selbst bei rapidem Tode (Pettit[2]); hyaline Degeneration, Aufquellung der Zellen.

In der Blase findet sich blutiger Harn.

Am Nervensystem fand Westphal[3]) mit Hilfe der Nisslschen Methode schwere Veränderungen, denen beim Tetanus sehr ähnlich.

Wir sehen also, dass im großen und ganzen die Vergiftung ähnlich der mit Ricin, Schlangengift u. s. w. verläuft.

Erhitztes Serum (58°) wirkt in sehr großen Dosen (100fach der sonst tödlichen) noch schwach auf die Tiere ein, die bedeutend an Gewicht verlieren.

---

1) Bardier, Action cardiaque du sérum d'anguille. Soc. Biol., 50, 548 (1898).

2) Pettit, Altérations rénales consécutives à l'injection du sérum d'anguille. Soc. Biol., 50, 320 (1898).

3) Cit. bei Kossel (l. c.).

Wirkung auf das Blut.

Das Aalblut übt schon im Körper eine energische hämolytische Funktion aus (CAMUS & GLEY). Die Iris färbt sich rot; es bilden sich Hämorrhagieen, blutige Exsudate im Peritoneum, Erythrocyten und Hämoglobin treten im Harn auf. Das arterielle Blut enthält Hämoglobin. Die Resistenz der Erythrocyten wurde durch Zusatz von $^1/_{1000}$—$^1/_{10000}$ Aalserum meist so geschwächt, dass sie noch an 0,7 % NaCl-Lösung ihr Hämoglobin abgaben, während normale Kaninchenblutkörperchen erst bei 0,48—0,50 nachgeben. Aehnlich verhielten sich Meerschweinchen, während die Erythrocyten des Igels sich als refraktär erwiesen, ebenso die der Hühner und Tauben, Schildkröten, Frösche, Kröten, Fledermäuse. Besonders interessant ist der Umstand, dass nach H. SACHS neugeborene Kaninchen eine hohe relative Widerstandsfähigkeit zeigen, und sich erst später passende Rezeptoren in größerer Menge bilden (vergl. dazu auch bei Arachnolysin). Die Eigenschaft des Aalserums wird durch vorsichtige Neutralisierung mit Salzsäure nicht tangiert.

Durch Zusatz anderer Sera wird sie ebenfalls nicht beeinflusst, dagegen durch Erwärmen auf 55° vernichtet. Bei 0° geht die Auflösung nicht vor sich, bei 23° sehr gut.

Nach WENDELSTADT[1]) wird die Hämolyse durch Zusatz kleiner Mengen Glykogen beeinträchtigt.

Immunisierung gegen das Aalblut.

Das Gift des Aalblutes zeigt sich auch insofern als echtes Toxin, als man empfängliche Tiere damit immunisieren kann.

Nach KOSSEL, CAMUS & GLEY, WEHRMANN und TCHISTOVITCH[2]) benutzt man dazu am vorteilhaftesten Kaninchen. Man injiziert zuerst 0,05—0,1 cm³ subkutan oder intravenös; die Tiere vertragen diese Dosis meist gut, und sind dann leicht höher zu immunisieren. Meerschweinchen sind schwer zu immunisieren, da sie meist eingehen; Hunde vertragen die Behandlung gut, geben aber nur schwache Antisera. Ziegen scheinen sich dagegen gut zu eignen. Hühner und Tauben geben nur Spuren von Antikörpern, und auch nur gegen die blutlösende Wirkung in vitro. Tauben sind sehr empfindlich gegen das Gift, obwohl ihre Erythrocyten fast gar nicht vom Aalserum angegriffen werden.

Die Antitoxinbildung geht sehr schnell vor sich, schon nach 3—4 Injektionen erhält man ein Serum von etwa $^1/_{10}$—$^1/_{20}$ Stärke; d. h. man braucht 10—20 cm³ Serum, um 1 cm³ Aalserum zu neutralisieren.

TCHISTOVITCH bestimmt den Wert seines Serums in folgender Weise:

---

1) WENDELSTADT, Einw. v. Glykogen a. hämolyt. Vorgänge. C. f. Bakt., 34, 831 (1903).

2) TCHISTOVITCH, Études sur l'immunisation contre le sérum d'anguille. Ann. Past., XIII, 406 (1899).

5 Tropfen Aalblut (1 : 10 7‰ NaCl) werden mit steigenden Antitoxindosen behandelt. Als Reagens dienten einige cm³ Kaninchenblut auf 20 cm³ verdünnt, sowie die Prüfung der toxischen Wirkung. Beide Reihen liefen gewöhnlich parallel. Hierbei stellten sich jedoch eigentümliche Ergebnisse heraus.

Während nämlich die Kaninchen selbst immer resistenter wurden, immer größere Giftmengen vertrugen, nahm der Antitoxingehalt ihres Serums nicht in derselben Weise zu; er wurde im Gegenteil immer geringer.

Gleichzeitig zeigten auch die Erythrocyten dieser Tiere besondere Eigenarten.

Kossel, Camus & Gley hatten gleichzeitig darauf aufmerksam gemacht, dass die Erythrocyten immunisierter Tiere unter Umständen an sich (d. h. gründlich vom Serum befreit) refraktär gegen die Hämolyse durch Aalblut sind. Tchistovitch fand nun, dass die Blutkörperchen an sich grade dann besonders leicht löslich sind, wenn der Antitoxingehalt des Serums hoch ist; dass sie dagegen mehr oder minder refraktär sind, wenn sich der Antitoxingehalt des Serums vermindert.

Es zeigt sich hier ein gewisser Parallelismus der Erscheinungen, der, die Richtigkeit der Thatsachen vorausgesetzt, auf ein Versiegen der Rezeptoren für das Aaltoxin sowohl in den Körperzellen, als auch in den Erythrocyten hinzudeuten scheint. Wenn wir annehmen, dass toxisches und hämolytisches Prinzip des Aalserums identisch sind, so müssen wir auch passende Rezeptoren dafür sowohl in den Körperzellen, wie in den Erythrocyten annehmen; ein Versiegen der Rezeptorenbildung unter dem Einfluss der Immunisierung würde dann thatsächlich eine Giftfestigung trotz verminderter Antitoxinbildung einerseits, eine Unempfindlichkeit der Erythrocyten andererseits erklären.

Es ist nun allerdings die Frage, ob beide Prinzipien wirklich identisch sind. Wir stoßen hier auf dieselben Schwierigkeiten wie beim Ricin. Auch dort lässt sich die Blutwirkung leicht aufheben, ohne die toxische zu vernichten; auch dort ist unter normalen Bedingungen der schützende Einfluss auf die Erythrocyten das Mass auch für die antitoxische Kraft. Und doch ist auch hier, wie wir oben sahen, die Frage, ob das Ricin zwei aktive Stoffe enthält, noch nicht abgethan; wenn auch freilich viel für die Jacobysche Ansicht, dass es sich um einen verzweigten Receptor handeln möge (s. d.), spricht.

Beim Aalblut liegt die Sache noch etwas anders.

Hier ist die Frage, ob nicht die blutlösende Wirkung des Serums insofern ganz von der toxischen zu trennen ist, als es sich hier um ganz analoge hämolytische Vorgänge handeln kann, wie sie zahlreiche andere normale Sera auf fremde Erythrocyten ausüben. Wie Ehrlich und Morgenroth in zahlreichen Arbeiten nachwiesen, handelt es sich hier

um Reihen von eigenen Haptinen mit verschiedenen spezifischen Ambozeptoren und Komplementen.

Nachgewiesen ist bis jetzt freilich nicht, dass nicht doch auch hier, wie JACOBY für das Ricin annimmt, an einem Amboceptor zwei verschiedene ergophore Gruppen sitzen, deren eine hämolytisch, die andere toxisch wirkt.

Dagegen spricht auch nicht der von TCHISTOVITCH hervorgehobene Umstand, dass Erwärmen auf 55° die hämolytische Fähigkeit vernichtet, ohne die spezifisch toxische zu zerstören (was übrigens von CAMUS & GLEY strikte geleugnet wird), und dass das so partiell inaktivierte Aalserum nach wie vor Antitoxin erzeugt. Alle diese Thatsachen lassen sich ebensogut durch eine partielle Toxoïdbildung, wie durch die Annahme zweier spezifischer Haptine mit verschiedenen haptophoren Gruppen erklären.

Hier könnten allenfalls nur exakte Bindungsversuche nach der EHRLICHschen Methodik Klarheit schaffen. Man müsste zu entscheiden versuchen, ob das Aalserum noch dann seine toxische Kraft behält, wenn man die für Blutkörperchen passenden Rezeptoren durch spezifische Bindung entfernt hat.

Nachtrag.

Von den zahlreichen Arbeiten, die während der Drucklegung erschienen sind, und nicht mehr berücksichtigt werden konnten, sei doch die Monographie von GRASSBERGER & SCHATTENFROH (Ueber das **Rauschbrandgift,** Franz Deuticke, 1904) referiert, da sie ein sonst kaum bekanntes Gift ausführlich behandelt.

Nach den Darlegungen der Verfasser handelt es sich beim Rauschbrandbacillus um ein echtes Toxin, das aber durch die bisherigen Arbeiten nicht recht bekannt geworden war. GRASSBERGER & SCHATTENFROH führen nun aus, dass die Toxinbildung des Rauschbrandbacillus nur unter ganz bestimmten Kulturbedingungen vor sich geht, nämlich besonders dann, wenn sich der Bacillus als typischer Buttersäurebacillus erweist. Dazu ist vor allem die Anwesenheit von gärfähigem Zucker oder noch besser von milchsaurem Kalk in der Kulturflüssigkeit notwendig. Sehr häufig versagt die Toxinbildung ganz; die »denaturierten« Stämme vermögen die Milchsäure nicht mehr zu vergären und erzeugen gar kein Toxin; die Sporulationsfähigkeit kann dabei eingeschränkt oder lebhaft erhalten sein.

Dagegen tritt nun bei einer stillen Nachgärung, bei der vorwiegend die Milchsäure zersetzt wird, energische Toxinbildung auf, die während der ersten stürmischen Gärung fehlen kann, und dementsprechend auch bei Aussaat auf zuckerfreien, Milchsäure enthaltenden Kulturen. Von weiterer ausschlaggebender Bedeutung ist die Reinheit der Kulturen, da andere Bakterien das sehr labile Gift anscheinend schädigen. Ferner ist eine Temperatur von ca. 37° zur Toxinbildung notwendig.

Die Toxinbildung durch den Rauschbrandbacillus ist eine echte, freie Sekretion.

Die keimfreie Filtration gelang durch Verwendung von Klärpulvern, da feste Filter zuviel Toxin absorbieren.

Die Wirkung bei Meerschweinchen ist der Rauschbrandinfektion ähnlich: Oedeme, Hämorrhagieen, Temperaturabfall, Lungenödem, also eigentlich ganz das allgemeine Bild der Toxinvergiftung. Die Inkubationszeit beträgt nur wenige Stunden, die Krankheitsdauer 2—4 Tage, bei massiven Dosen 6—7 Stunden.

Als Einheit wurde eine Giftlösung gewählt, von der 0,01 cm^3 subkutan ein Meerschweinchen von 200—300 g tötete. Bei Kaninchen tritt nach intravenöser Injektion der Tod auch bei 1000 let. Dos. erst

nach einer Stunde ein, für sie ist subkutan 0,1—0,2 Normalgift die tödliche Dosis. Aehnliche Mengen p. K. töten auch Affen, Hunde, Igel, Mäuse, Hühner, Tauben, Schafe und Rinder. Für ein Jungrind war 40 cm^3 Normalgift die Dos. let., bei Schafen ca 2 cm^3. Frösche sind refraktär, bewahren aber das Gift in ihrem Körper auf.

Das Gift passiert sehr schwer Thonfilter, besonders Pukall, und dialysiert kaum. Gegen Einfrieren und Auftauen ist es beständig, Licht schädigt wenig, wohl aber Erwärmen schon auf 30°; dagegen lässt es sich in der Kälte im Vacuum eintrocknen. 50° in 1 Stunde zerstört es fast völlig, so dass nur bei großen Dosen (7—10 cm^3 bei Meerschweinchen) noch Schwellungen auftreten. Auch bei luftdichtem Aufbewahren wird es schnell geschwächt, noch schneller an der Luft.

Permanganat zerstört bei 1,5 ‰, Phenol bei 1 %, auch Formaldehyd (1 ‰), sowie Aussalzen mit Ammonsulfat und Fällen mit Alkohol und Aether schädigen erheblich. Chloroform ist völlig indifferent.

Das Rauschbrandgift zeigt sich als echtes Toxin auch dadurch, dass man ein Antitoxin erzeugen kann. Bei Meerschweinchen gelingt es nicht, da sie überempfindlich werden, leicht aber bei Kaninchen und Rindern. Namentlich letztere sind sehr leicht zu immunisieren und ergeben hochwertige Sera (bis 400fach), während selbst hochimmune Kaninchen nur schwach antitoxinhaltige Sera ergeben. Die Beziehungen zwischen Toxin und Antitoxin zeigen ganz analoge Zahlenerscheinungen wie z. B. beim Diphtherietoxin (ausgesprochener Wechsel der Größe D, Schwellungen bei Injektion von Mischungen in der Differentialzone u. s. w.), die also auf Toxone deuten. Dagegen scheint Toxoïdbildung nicht einzutreten, da mit der Abnahme der Giftigkeit auch das Bindungsvermögen parallel abnimmt. Die Bindung scheint ferner eine sehr langsame zu sein.

Das Antitoxin scheint sehr beständig zu sein (Aufbewahrung durch 2 Jahre); es ist nicht dialysierbar, lässt sich zur Trockne bringen und verträgt 60—65° eine Stunde lang.

Bei Meerschweinchen sind überneutralisierte Toxin-Antitoxingemische häufig noch giftig, andere Tiere lassen sich damit immunisieren, so dass auch hier Gleichgewichtszustände um den neutralen Punkt herum zu existieren scheinen, die näherer Untersuchung bedürfen.

Alphabetisches Litteraturverzeichnis
zugleich Namenregister.

Die kursiv gesetzten Zahlen bedeuten die Seitenzahlen. Die mit * bezeichneten Citate habe ich nicht im Original eingesehen.

BEHRING, Die Diphtherie. Berlin 1901. *156.*
— Ueber die spez. giftigen Eigensch. d. Tuberkulinsäure. Berl. klin. Woch., 1899, 537. *150.*
BEHRING & KNORR, Ueb. den Immunisierungswert des Tetanusheilserums. Z. f. Hyg., XIII, 407 (1893). *94.*
BEHRING & WERNICKE, Ueb. Immunisier. u. Heilung von Versuchstieren b. d. Diphth. Zeitschr. f. Hyg., XII, 10 (1892). *68.*
BELFANTI, Sulla immunisazione per mezzo di filtrati di sputo pneumonico. Rif. med., 1892, 126. C. f. Bakt., XII, 401. *140.*
BELFANTI & CARBONE, Contributo alla conoscenza dell' antitossina difterica. Arch. per le scienze med., 22, Nr. 2. Ref. C. f. Bakt., 23, 1898. *89.*
Bericht der deutschen Pest-Comm. Arb. Kais. Ges.-Amt, 16 (1899). *138.*
BERNHEIM, Immun. tuberc. et sérumthérapie. Soc. Biol., 48, 291 (1896). *146.*
BERT, Soc. Biol., 37, 574 (1885). *205.*
BESREDKA, De l'hémolysine streptococcique. Ann. Past., XV, 880 (1901). *125.*
— De la fixation de la tox. tét. par le cerveau. Ann. Past., XVII, 138 (1903). *101, 105.*
BESSON, Contribut. à l'étude du vibrion septique. Ann. Past., IX, 179 (1895). *160.*
BEUMER & PEIPER, Bakt. Stud. üb. Typhusbaz. Z. f. Hyg., II, 110 (1887). *135.*
BILLINGER, Winterschlaf und Infektion. Wien. klin. Woch., 1896, 769. *106.*
BITTER, Ueb. Festig. v. Versuchstieren geg. d. Intoxikation durch Typhusbazillen. Z. f. Hyg., XII, 298 (1892). *136.*
BLUMENTHAL, Ueb. d. Möglichk. d. Bildg. von Diphtherietoxin aus Eiweißkörpern und auf Zucker enthaltenden Nährböden. D. med. Woch., 1897, Nr. 24. *65.*
— Weit. Beitr. z. Kenntn. des Tet.-G. Z. f. klin. Med., 32, 325 (1897). *109.*
— Ueber die Veränderungen des Tetanusgiftes im Tierkörper. Dtsch. med. Woch., 1898, 185. *104, 109.*
BLUMENTHAL & JACOB, Zur Serumtherapie des Tetanus. Berl. klin. Woch., 1898. 1079. *99. 105.*
BOMSTEIN, Z. Frage der passiven Immunität bei Diphtherie. C. f. Bakt., 22, 587 (1897). *84.*
— Ueb. d. Schicksal der Diphth.-T. im Tierorganismus. C. f. Bakt., 23, 785 (1898). *78.*
BORDET, Sur le mode de l'action des antitoxines sur les toxines. Ann. Past., XVII, 161 (1903). *51.*
BREYMANN, M., Ueb. Stoffwechselprod. d. Bac. pyocyaneus. C. f. Bakt., 31, 481 (1902). *114. 120.*
BRIEGER, Weiteres über Ptomaine. Berlin 1885. *135.*
— Weitere Erfahrungen über Bakteriengifte. Z. f. Hyg., XIX, 101 (1895). *13, 94, 95.*
BRIEGER & BOER, Ueb. d. Toxine d. Diphtherie u. s. w. Deutsche med. Woch., 1896, 783. *63, 71, 72.*
— — Ueber Antitoxine und Toxine. Z. f. Hyg., 21, 259. *86.*
BRIEGER & COHN, Unters. üb. d. Tetanusgift. Z. f. Hyg., XV, 1 (1893). *93, 95.*
— — Beitr. z. Concentr. d. geg. Wundstarrkrampf schützenden Substanz. Z. f. Hyg., XV, 439 (1893). *110.*
BRIEGER & EHRLICH, Beitr. z. Kenntn. d. Milch immuner Tiere. Z. f. Hyg., XIII, 336 (1893). *86.*
BRIEGER & FRÄNKEL, Ueber Bakteriengifte. Berl. klin. Woch., 1890, 241. *68, 70, 156.*
BRIEGER & KEMPNER, Beitrag z. Lehre v. d. Fleischvergiftung. Dtsch. med. Woch., 1897, 521. *113.*
BRIEGER, KITASATO & WASSERMANN, Ueb. Immunität u. Giftfestigung. Z. f. Hyg., XII, 137 (1892). *14, 68.*
BRIOT, Etudes sur le venin de la vive (Trachinus draco). Journ. de phys. et pathol., 1903, 271. *206.*
BRODIE, Journ. of pathol., 1897, 460. Cit. n. MARTIN & CHERRY, The antagonism between toxins an antitox. Proc. Roy. Soc., 63, 420 (1898). *83.*
BRUNNER, Klin. u. exp. Stud. üb. Tet. Beitr. z. klin. Chirurg., IX—XII (1892/94). *100.*
— Z. Kenntnis d. Tetanusgiftes. Zeitschrift f. klin. Med., 31, 367 (1897). *14.*
— Unt. üb. d. Wirk. von Bakterien- u. Pflanzengiften. Ref. C. f. Bakt., 24, 184 (1898). *79.*
*BRUSSCHETTINI, Rif. med., 1892. *102.*
BRUYLANTS & VENNEMANN, Le Jequirity. Bull. acad. méd. Belgique, III, 18, 147 (1884). *176.*
BUCHNER, Tuberkulinreakt. d. Proteïne nicht spezifischer Bakt. Münch. med. Woch., 1891, 841. *151.*
— Bakteriengifte u. Gegengifte. Münch. med. Woch., 1893, 449. *6, 12.*
— Zu R. KOCHS Mitt. über neue Tuberkulinpräparate. Berl. klin. Woch., 1897, 322. *149.*
— Die Bedeutung der aktiven löslichen Zellprodukte etc. Münch. med. Woch., 1897, 12. *6, 149.*
BUJWID, Ueb. e. Methode d. Concentrat. d. diphth. Heils. mittelst Ausfrieren. C. f. Bakt., 22, 287 (1897). *83, 85.*
BULLOCH & HUNTER, Ueber Pyocyanolysin. C. f. Bakt., 28, 865 (1900). *120.*
BUSCHKE & OERGEL, Beitrag zur Kenntnis des Tetanus. D. med. Woch., 1893, 149. *109.*

C

Calabrese & Zagari, Ricerche sulla tossina ed antitossina difter. (Giorn. internaz. di Scienze mediche, 1895, Nr. 4, 19—21). Baumgartens Jahrb., 1895, 215., *75.*

Calmette, Étude expérimentale du venin de naja tripudians. Ann. Past., VI, 160 (1892). *183.*

— Sur la toxicité du sang de cobra. Soc. Biol., 46, 11 (1894). *183.*

— Propriétés du sérum des animanx immunisés contre le venin des serpents. Compt. rend. de l'Acad., 118, 120, 1004 (1894). *198.*

— Contrib. á l'étude des venins. Ann. Past., IX, 225 (1895). *187.*

— Sur le sérum antivénimenx. Compt. rend. de l'Ac., 122, 203 (1896). *178.*

— Sur le venin des serpents. Ann. Past., X1, 214 (1897). *184, 201.*

— Sur le mécanisme de l'immunisation contre les venins. Ann. Past., XII, 343 (1898). *186.*

Calmette & Déléarde, Sur les toxines non microbiennes. Ann. Past., X, 675 (1896). *178, 185.*

Camus, Resistance aux tempér. élevée des vaccins dessêchés. Soc. Biol., 50, 235 (1898). *25, 83.*

Camus & Gley, Recherches sur l'action physiolog. de sérum d'anguille. Arch. internat. de pharmacodynamie, V, 247 (1898). *208.*

Cano-Brusso, Untergang d. Tetanusgiftes im Darm. Maly Jb., 1901, 914. *19.*

Cantani, Giftigkeit der Cholerabazillen. D. med. Woch., 1886, 789. *128.*

Carnot, Reprod. expérim. de la pneumonie fibrineuse. Soc. Biol., 51, 927 (1899). *140.*

Carnot & Fournier, Sur le pneumocoque et ses toxines. Arch. méd. expér., 1900, 357. *141.*

— — Lésions cardiaques et mnsculaires par la toxine pneumon. Soc. Biol., 52, 143 (1900). *141.*

Carrière, Étude expér. des altérations histolog. du foie etc. Arch. méd. expér., 1X, 65 (1891). *148.*

— Toxines et digestion. Ann. Past., XIII, 435 (1899). *18, 98.*

— Du sort de la toxine tétanique introduit dans le tube digestif. Soc. Biol., 51, 179 (1899). *18.*

Casagrandi, L'Emolisina e la Leucolisina Diplococcica. Bull. Soc. Lancis. Rom 27, 2. Bioch. Centr. 1, 402 (1903). *125.*

Chantemesse, Toxine typhoide soluble. Progr. méd., 1898, 245. *136.*

— Lösliches Typhustoxin. Wien. med. Blätter, 1898, 18 ff. *136.*

Chantemesse & Widal, L'immunité contre le virus de la fièvre typhoide. Ann. Past., II, 1888, 54. *135.*

Chantemesse & Widal, Ét. expérim. etc. de l'infection typhique. Ann. Past., VI, 755 (1892). *135.*

Charrin, Action des sncs digestifs snr les poisons microbiens. Arch. de phys., 1898, 67. *19.*

Charrin & Bardier, Action cardiaque, propriété speciale de la botuline. Soc. Biol., 50, 60 (1898). *114.*

Charrin & Cassin, Fonctions protectrices actives de la muqueuse intestinale. Sem. méd., 1895, 545. *18.*

Charrin & Lefèvre, Action de la pepsine sur la toxine dipht. Soc. Biol., 49, 830 (1897), Sem. méd., 1897, 296. *19.*

Charrin & Levaditi, Action du pancréas sur la toxine dipht. Soc. Biol., 51, 215 (1899). *19.*

Chassin & Moussu, Influence de la dialyse etc. Soc. Biol., 52, 694 (1900). *12, 73.*

Chauveau, Sur le mécanisme de l'immnn. Ann. Pasteur, 11I, 66 (1888). *155.*

Christmas, Le Gonocoqne et ses toxines. Ann. Past., X1, 609 (1897). *142.*

— Contrib. á l'étude du Gonococcus. Ann. Past., XIV, 331 (1900). *142.*

Claude, Myelite aïgue par toxines streptocoq. Soc. Biol., 48, 122 (1896). *144.*

— Deux cas d'hémorrhagie de la vésic. biliaire etc. Soc. Biol., 1896, 169; Sem. méd., 1896, 62. *23.*

Cobbett, Der Einfluss der Filtration auf das Diphth.-Antitoxin. C. f. Bakt., 24, 386 (1898). *83.*

— Enthält das normale Pferdeserum Antitoxin? C. f. Bakt., 26, 458 (1899), s. a. Lancet, 1899, 11, 332. *82.*

— Excretion of Dipht. Tox. in the nrine. Brit. med. journ., 1900, I, 21. *14.*

Cobbett & Kanthack, Ueb. das Schicksal d. Diphtherietoxins im Tierorganismus. Centralbl. f. Bakt., 24, 129 (1898). *30.*

Conradi, Z. Frage d. Toxinbild. bei d. Milzbrandbakt. Z. f. Hyg., 37, 287 (1899). *154.*

— Ueber lösliche, dnrch Autolyse erhaltene Giftstoffe. D. med. Woch., 1903, Nr. 2. *134, 137.*

Consiglio, Azione di alcune tossine etc. Arch. di Farm., V1, Nr. 3 (1898). Malys Jb., 1898, 634. *23, 79.*

Councilman, Mallory & Pearce, Diphtheria. — A study of bacteriology etc., 1901, ausführlich cit. in Vaughan & Novy, The cellular toxins, 1902, p. 75 ff. *78.*

Courmont & Doyon, a) Mécanisme de production des contractnres du tétanos. Arch. de phys., 1893, 64. — b) La substance toxique qni engendre le tétanos. Sem. méd., 1893, 122. — c) Du tét. de la grenouille. Ibid., 1893, 302. — d) De la prod. d. t. chez la poule. Ibid., 1893, 486. *107.*

Courmont & Doyon, Marche de la températ. dans l'intoxication diphth. Arch. de physiol., 27, 252 (1895). *76.*
— — Effets de la toxine cholér. Arch. de phys., 28, 785 (1896). *131.*
— — Le Tétanos. Paris, Baillière, 1899. *102.*
Courmont, Doyon & Paviot, Action de la toxine diphthérique sur le système nerveux de la grenouille etc. Soc. Biol., 47, 210 (1895). *75.*
— — — Lésions intestinales dans l'intoxic. diphth. Arch. de phys., 27, 484 (1895). *77.*
— — — Lésions hépatiques engendrés par la t. d. Arch. d. phys., 27, 687 (1895). *77.*
Crocq, S. l. altérat. du syst. nerveux dans l. paralys. diphth. Arch. méd. expér., VII, 503 (1895). *77.*
Croly, Sur l. disparition de la tox. dipht. injectée dans le sang. Arch. internat. de pharmacodynamie, III. *79.*
Cruz, La ricine. Ann. d'hygiène publique, 40, 344 (1898). *162.*
Cushny, Ueb. das Ricinusgift. Arch. exper. Pathol., 41, 439 (1898). *162.*

D

Danysz, Constitution des toxines. Ann. Past., XIII, 581 (1899). *73.*
— Contr. à l'étude des propr. des melanges des toxines avec leurs antitox. Ann. Pasteur, XVI, 331 (1902). *54, 170.*
Debrand, Sur un nouveau procédé de culture du bacille du tétanos. Ann. Pasteur, XIV, 757 (1900). *93.*
Decroly & Ronsse, Pouvoir toxique et antitoxique du sang etc. Arch. internat. de pharmacodyn., VI, 211 (1899). *107.*
Déléarde, Rech. expér. sur les propriétés etc. de l'antipyrine. Arch. de méd. expér., 1897, 786. *73.*
Delezenne, Action du sérum d'anguille sur la coagul. du sang. Arch. d. phys., 29, 646 (1897). *207.*
*Denys & van de Velde, Sur la production d'une antileucocidine etc. La cellule, XI. *126.*
Deutsch & Feistmantel, Die Impfstoffe und Sera. Leipzig 1903, S. 40. *21.*
Dieudonné, Ueb. Diphtheriegift neutralis. Wirkung d. Serumglobuline. Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, XIII, 293 (1897). *82, 90.*
*Dixson, Australian Med. Gaz., 1887, 156. *162.*
Dönitz, Ueb. d. Verhalten d. Chol.-Vibr. im Hühnerei. Z. f. Hyg., 20, 31 (1895). *128.*
— Ueber das Tetanusantitoxin. Dtsch. med. Woch., 1897, 428. *14, 103, 107.*
Dönitz, Ber. üb. die Thätigkeit des Kgl. Instituts f. Serumforschung u.s.w. S. A. a. d. »Klin. Jahrbuch« VII (1899). *40, 110.*
— Ueb. d. Grenzen der Wirksamkeit d. Diphtherieheilserums. Arch. internat. d. pharmacodyn., V, 425 (1899). *78.*
Dreyer, Ueber die Grenzen d. Wirkung d. Diphtherieheilserums gegenüber d. Toxonen. Z. f. Hyg., 37, 267 (1901). *81.*
Duenschmann, Étude expérim. sur le charbon symptomatique. Ann. Past., VIII, 403 (1894). *160.*
v. Dungern, Steigerung d. Giftproduktion d. Di.-B. Centr. f. Bakt., XIX, 137 (1896). *64.*
— Bindungsverh. bei d. Präcipitinreaktion. C. f. Bakt., 34, 355 (1903). *55.*
Dzierzgowski, Z. Frage: »Ueb. die Verluste des Diphth.-Heils. bei der Filtration«. C. f. Bakt., 21, 333 (1897). *83.*
— Zur Frage über die Beziehungen zwischen dem antidiphth. Heilserum u. d. Diphtherietoxin. Arch. internat. de pharmacodyn., V, 1. (1898). *29.*
— Die Bezieh. d Verdauungsfermente zum Antidiphtherieserum. Arch. d. sciences biolog., VII, 337. (Malys Jh., 1899, 957.) *84.*
Dzierzgowsky & Sieber, Archiv. des sciences biol. de St. Pétersb., VIII. *99.*

E

Ehrlich, Die Wertbemessung des Diphtherieheilserums. Klin. Jahrbuch, VI. *14, 80.*
— Exper. Unters. üb. Immunität. Dtsch. med. Woch., 1891, 976, 1218. *27, 162, 169.*
— Experimentelle Unters. über Immunität. Deutsche med. Woch., 1897, 41. *27, 162.*
— Zur Kenntn. d. Antitoxinwirkg. Fortschr. d. Med.. 1897, 41. *27, 28, 162.*
— Verh. Ges. Charité-Aerzte, Febr. 1898. Berl. klin. Woch., *117, 180.*
— Ueb. d. Bezieh. von chemischer Konstitution, Verteilg. und pharm. Wirkg. Festschr. f. Leyden, 1902. *190.*
— Toxin und Antitoxin. Münch. med. Woch., 1903, Nr. 33/34. *8, 52.*
— Ueb. d. Giftkomponenten des Diphtherietoxins. Berliner klin. Woch., 1903, Nr. 35. *52.*
M. Eisenberg, D. Bindungsverh. zwischen Toxin und Antitoxin. C. f. Bakt., 34, 259 (1903). *54.*
Elfstrand, Ueber blutkörperchenagglutinierende Eiweiße. Görbersdorfer Veröffentlichungen, herausg. von R. Kobert. Stuttgart, F. Enke, 1898, 1. *179.*

ENRIQUEZ & HALLION, Myelite expér. tox. dipht. Soc. Biol., 46, 312 (1894). *77.*
— Sur les effets physiol. de la toxine dipht. Arch. de phys., 27, 515 (1895). *76.*
EPPINGER, Die toxische Myolyse des Herzens bei Di. Deutsche med. Woch., 1903, Nr. 15/16. *77.*
VAN ERMENGEM, Sur l'inoculation des produits de culture du bacille virgule. Bull. Acad. méd. belg., III, 18, 1221 (1884). *127.*
— Ueber einen neuen anaëroben Bacillus u. s. Bezieh. zum Botulismus. Z. f. Hyg., 26, 1 (1897). *112.*
ERNST, COOLIDGE & COOK, The effect of freezing upon the antidipht. serum. Journal Boston med. soc., II, 166. Baumgartens Jb., 1898, 242. *86.*

F

FABER, Die Pathogenese des Tetanus. Berl. klin. Woch., 1890, 717. *92.*
MC FARLAND, Immunization of animals to rattle-snake venom. Ref. C. f. Bakt., 29, 496 (1901). *190.*
— — Some investigations upon antivenene. Journ. Amer. Med. Asso ciation, Dec. 1901. Ref. C. f. Bakt., 31, 792. *199.*
FAYRER & LAUDER-BRUNTON, On the Nature of the Poison of Naja tripudians etc. Proc. Roy. Soc., 21, 371 (1873). *193.*
FAYRER & BRUNTON, On the Nature of the Poison of Naja tripudians etc. Proc. Roy. Soc. 22, 68 (1874). *182, 193.*
FENYVESSY, Ueb. d. Wirkg. d. D.-T. u. Antit. auf das Froschherz. Jahrb. f. Kinderh., N. F., 43, 216 (1896). *76.*
FERMI & PERNOSSI, Ueber das Tetanusgift. Zeitschr. f. Hyg., XVI, 385 (1894). *13, 93.*
FISCHL & V. WUNSCHHEIM, Ueb. Schutzkörper im Blute der Neugeborenen. Prager med. Woch., 1895, Nr. 45 ff. *82.*
FLEXNER, The pathology of toxalbumin intoxication. Johns Hopkins Hosp. Record, VI, 259 (1897). *78, 166.*
FLEXNER & NOGUCHI, The constitution of snake venom and snake sera. Univ. of Pennsylv. Med. Bull., Nov. 1902. *194.*
— — Snake venom in relation to haemolysis ect. Journ. of exper. med., VI, 277, (1902). *186, 193.*
FOÀ & CARBONE, Sulla immunità verso il diplococco pneumonico. Gazz. med. di Torino, 1891, 1. (C. f. Bakt., X, 768.) *140.*
FOÀ & SCABIA, Sulla immunità della pulmonite. Gaz. med. d. Torino, 1892, 13/15. C. f. Bakt., XI, 615. *140.*
*FONTANA, Trattado del veleno della vipera 1787. *182.*
FORSSMAN, Beitr. z. Kenntn. d. Bakt. d. Botulismus. Autoref. C. f. Bakt., 29, 541 (1901). *113.*
FOTH, Das Malleïn u. s. w. Fortschr. d. Med., 1895, 637. *153.*
FRÄNKEL, Immunisierungsversuche bei Diphth. Berl. klin. Woch., 1890, 1133. *68.*
— Ueb. d. Wirkg. d. Ricins auf Fischblut. Hofm. Beitr., IV, 224 (1903). *168.*
FRASER, Immunity against snake poison. Brit. med. journ., (1895), I, 1309. *187, 198.*
— Antitoxic qualities of the bile of serpents. Brit. Med. Journ., 1897, II, 595. *201.*
— Antivenemous properties of the bile of serpents. Brit. med. J. 1897, II, 125. *201.*
— The treatment of snake poisoning with antivenene. Brit. Med. Journ., 1895, II, 417. *201.*
FREUND & STERNBERG, Ueber Darstellung des Heilkörpers aus d. Diphtherieheilserum. Z. f. Hyg., 31, 429 (1899). *87.*
FRENKEL & BRONSTEIN, Ueber Tuberkulosetoxin und Antitoxine. Berl. klin. Woch., 1901, 861. *146.*
FREUND & GROSZ, Ueb. d. Bez. zw. Gerinnung n. d. Wirkg. d. Antitoxine. Centralbl. f. inn. Med., 1895, 613, 637. *74.*
FRIEDRICH, Beobacht. üb. d. Wirkung von subkutan einverleibten Streptokokken-Toxinen u. s. w. Berl. klin. Woch., 1895, 1065. *144.*
FULD & SPIRO, Ueb. labende u. labhemmende Wirkung d. Blutes. Z. f. phys. Ch., 31, 132, (1900). *91, 92.*

G

GAMALEÏA Les poisons bactériens. Arch. de méd. expér., 1892. *63.*
— Recherches expér. sur les poisons du choléra. Arch. de méd. expér. 1892, 173. *128.*
GATTI, L'azione di alcune tossine batteriche sopra gli elementi della retina. Autoreferat i. Bioch. Centr., I, Nr. 775 (1903). *77.*
DE GIAXA & PANE, Contributo alle cognizione sulla immunis. contra la infez. da streptococco. Riform. med., 12, 4, p. 5 (Baumgart. Jb., 1896, 23). *143.*
GIBIER, Effets produits par l. toxines etc. injectées dans le rectum. Sem. méd., 1896, 202. *18.*
GOLDBERG, Ueber Ausscheidung des Tetanusgiftes durch die Nierensekretion. Centralbl. f. Bakt., 26, 547 (1899). *14.*
GOLDSCHEIDER & FLATAU, Ueber die Ziele der modernen Nervenzellenforschung. Dtsch. med. Woch., 1898, 165. *102.*

Gramatschikoff, Ueber einige physiolog. Wirk. des Kochschen Tuberkulins. Arb. patholog. Inst. Tübingen, I, 287. Baumg. Jahrb., 1897, 548. *148.*

Grosz & Kraus, Bakteriol. Studien über den Gonococcus. Arch. f. Dermatol., 49, 3 (1899). *143.*

Gruber & Wiener, Ueb. d. intraperiton. Cholerainfektion. Wien. klin. Woch., 1892, 543. *128.*

Guinard, Effets physiolog. du malleïne. Journ. méd. vét., 46, 454. Baumg. Jb., 1895, 311. *154.*

Guinochet, Contrib. à l'étude de la toxine du bacille de la diphthérie. Arch. d. méd. expérim., 1892, 487. *6, 64.*

Gumprecht, Zur Pathog. d. Tetanus. Deutsche med. Woch., 1894, 546. *102.*

— Vers. über d. physiol., Wirk. des Tetanusgiftes. Pflügers Arch., 59, 105 (1895). *102.*

H

Hahn, Immunis. u. Heilungsvers. mit den plasmat. Zellsäften. Münch. med. Woch., 1897, 1344. *133, 149.*

Hankin, On immunity produced by an albumose isolated from Anthrax cultures. Brit. med. Journ., 1889, II, 65. *155.*

— On the conflict between the organism and the microbe. Brit. med. Journ., 1890, II, 810. *155.*

Hankin & Wesbrook, Albumoses et toxalbuminoses du bacille charbonneux. Ann. Pasteur, VI, 633 (1892). *155.*

Harnack & Hochheim, Ueb. Wirk. d. Briegerschen Tet.-G. Z. f. klin. Med., 25, 46 (1894). *101.*

Hausmann, Zur Kenntnis des Abrins. Hofm. Beitr., II, 134 (1901). *177.*

Hayashi, Ueber die chemische Natur des Tetanustoxins. Arch. f. exp. Pathol., 47, 9, und Chem. Centralbl., 1901, I, 411. *96.*

Hellin, Der giftige Eiweißkörper Abrin. Diss. Dorpat 1891. *176.*

Henseval, L'abrine. La Cellule, XVII, 139. Malys Jb., 31, 190. *175.*

Hirschlaff, Antimorphinserum. Berl. klin. Woch., 1902. *4.*

Hiss & Atkinson, Serumglobulin and Diphterie antitoxin. Journ. of exper. med., V, 47 (1901). *90.*

Homén, De l'action du streptocoque et de ses toxines sur les nerfs. Sem. méd., 1896, 211. (Soc. Biol., 1896, 23, V.) *144.*

Hueppe, Ueb. d. Aetiologie u. Toxikologie der Cholera asiatica. D. med. Woch., 1891, 417. *128.*

I

Ide & Lemaire, Ét. s. l. repartition de l'antitoxine dipht. etc. Arch. internat. d. Pharmacodyn., VI, 477. *90.*

Issaeff, L'immunité contre le pneumocoque. Ann. Past., VII, 259 (1893). *140.*

— Unt. üb. d. künstl. Imm. gegen Cholera. Z. f. Hyg., XV, 287 (1894). *128.*

J

Jacoby, Die chemische Natur des Ricins. Arch. exp. Path., 46, 28 (1901). *11, 170.*

— Ueber Ricinimmunität. Hofm. Beitr., I, 51 (1901). *11, 170.*

— Ueb. Ricinimmunität. Hofm. Beitr. z. chem. Physiol., I, 57 (1901). *22.*

— Ueb. Ricinimmunität. Hofm. Beitr., II, 535 (1902). *172.*

— Ueb. d. chem. Natur des Ricins. Arch. exper. Pathol., 46, 28. *163.*

— Ueber Crotin-Immunität. Hofm. Beitr., IV, 212 (1903). *180.*

Joukowsky, De l'influence de la toxine tétan. sur le système nerveux. Ann. Past., XIV, 464 (1900). *102.*

K

Kanthack, The nature of Cobra poison. Journ. of phys., XIII, 272 (1893). *184.*

Karfunkel, Schwankungen des Blutalkaleszenzgehaltes nach Einverleibung von Toxinen u. s. w. Zeitschr. f. Hyg., 32, 149 (1899). *23.*

Kartulis, Unters. über das Verhalten des Tet.-Giftes im Körper. Diss. Berlin 1892 (Dec.). *100.*

Kaufmann, Sur le venin de la vipère. Soc. Biol., 46, 113 (1894). *187.*

— Soc. Biol., 48, 860 (1896). *189.*

Kayser, Einw. d. Traubenzuckers auf Staphylococcus. Z. f. Hyg., 40, 21, (1902). *122.*

— Ueb. Bakterienhämolysine, bes. d. Colilysin. Z. f. Hyg., 42, 118 (1903). *121.*

Kempner, Weit. Beitr. zur Lehre von der Fleischvergiftung. Z. f. Hyg., 26, 481 (1897). *114.*

Kempner & Schepilewski, Ueb. antitoxische Substanzen geg. d. Botulismusgift. Z. f. Hyg., 27, 213 (1898). *114.*

Kempner & Pollack, Die Wirkung des Botulismustoxins auf die Nervenzellen. Dtsch. med. Woch., 1897, 505. *113.*

Kitasato, Exper. Unters. über das Tetanusgift. Z. f. Hyg., X, 287 (1891). *12, 92.*

Kitasato & Weyl, Zur Kenntnis der Anaëroben. Zeitschr. f. Hyg., VIII, 404 (1890). *92.*

Klemperer, G., Schutzimpf. d. Menschen geg. asiat. Cholera. Berl. klin. Woch., 1892, 970. *129.*

— Ueb. künstlichen Impfschutz gegen Choleraintoxikation. Berl. klin. Woch., 1892, 789. *128.*

— Die Beziehungen verschiedener Bakteriengifte z. Immunität u. Heilung. Z. f. klin. Med., 20, 165 (1892). *59, 139.*

G. & F. Klemperer, Vers. über Immunisiernng u. Heilung bei der Pneumokokkeninfektion. Berl. klin. Woch., 1891, Nr. 34/35. *139.*

Knorr, Die Entstehung des Tetanusantitoxins. Fortschr. d. Med., 1897, 657. *30, 97.*

— Das Tetanusgift nnd seine Beziehg. znm tier. Organismus. Münch. med. Woch., 1898, 321, 362. *26, 97.*

Kobert, Ueber vegetabilische Blutagglutinine. Sitzungsb. d. naturf. Ges., Rostock, 25. V. 1900. *167.*

— Beitr. z. Kenntn. d. Giftspinnen. Stuttgart 1901. *203.*

— Giebt es für den Menschen gefährliche Spinnen? Die Medic. Woche, 1902, S. 154. *203.*

— Ueber Giftfische u. Fischgifte. Vortrag i. Rostocker Fischereiverein, 1902. Die Med. Woche. 1902. *207.*

R. Koch, Vortr. über die Cholera. Berl. klin. Woch., 1884, S. 498. *127.*

— Zweite Conferenz z. Erört. d. Cholerafrage. Berl. klin. Woch., 1895, 37a, S. 8. *127.*

— Mitt. über ein Heilmittel gegen Tuberk. Deutsche med. Woch., 1891, 101, 1189. *147.*

— Ueber neue Tuberknlinpräparate. Deutsche med. Woch., 1897, 209. *148.*

— Ueber d. Agglutinat. d. Tuberkelbazillen. D. med. Woch., 1901, 829. *149.*

W. Koch, Milzbrand und Rauschbrand. Stuttgart 1886. *155.*

Kolisko & Paltauf, Zum Wesen des Croup und der Diphtherie. Wiener klin. Woch., 1889, Nr. 8. *63.*

H. Kossel, Zur Kenntnis d. Diphtheriegiftes. Centralbl. f. Bakt., XIX, 977 (1898). *9, 63.*

— Zur Kenntnis der Antitoxinwirkung. Berl. klin. Woch., 1898, 7. *208.*

Kossel & Overbeck, Bakter. Unters. über Pest. Arb. Kaiserl. Ges.-Amt, 18 (1901). *139.*

Kraus, Beitrag zur Klinik des Tetanus. Z. f. klin. Med., 37, 247 (1899). *109.*

Kraus & Clairmont, Ueber Hämolysine u. Antihämolysine. Wien. klin. Woch., 1900, S. 49. *117, 122.*

Kraus & Ludwig, Ueb. Bakteriohämagglutinine. Wien. klin. Woch., 1902, 120. *125.*

Krüger, Ueb. die chem. Wirkg. d. Elektriz. auf toxische und immunis. Bakteriensubstanzen. Deutsche med. Woch., 1895, 331. *74.*

Kühne, Erfahrungen über Albumosen u. Peptone. Z. f. Biol., 29, 24 (1892), 30, 220 (1894). *147.*

Kyes, Ueb. d. Wirkungsweise des Cobragiftes. Berl. klin. Woch., 1902, Nr. 38/39. *195.*

— Ueber die Isolierung von Schlangengiftlecithiden. Berl. klin. Woch., 1903, Nr. 42/43. *196.*

Kyes & Sachs, Zur Kenntn. d. Cobragift aktivierenden Subst. Berl. klin. Woch., 1903, Nr. 2—4. *195.*

L

Laitinen, Das Streptokokkentoxin u. seine Wirkung auf das Nervensystem. C. f. allg. Pathol., 1896, 358. *144.*

Landmann, Ueb. eine neue Meth. der Tuberkulosetoxin-Behandlung. Hyg. Rundschau, X, Nr. 8. C. f. Bakt., 27, 870 (1900). *149.*

Lau, Ueb. vegetabil. Blutagglutinine. Diss. Rostock, 1901. *168.*

Lazarus, Ueb. antitoxische Wirksamkeit des Blutserums. Berl. klin. Woch., 1892, 43/44. *135.*

Ledoux & Lebard, De l'action sur la tempér. du bouillon des cultures tuberc. Arch. d. méd. expér., X, 601 (1898). *146.*

E. & P. Levy, Ueber die Hämolysine des Ty.-B. C. f. Bakt., 30, 405 (1901). *125.*

v. Leyden-Blumenthal, Der Tetanus. Nothnagels Handb., Wien 1901. *15.*

v. Lingelsheim, Ueber die Wertbestimmung der Tbc.-Giftpräparate. Dtsch. med. Woch., 1898, 583. *148.*

Linossier & Lemoine, Action nephrotoxique des inj. d. sérums normaux. Soc. Biol., 55, 515 (1903). *85.*

Löffler, Unters. üb. d. Bedeutg. der Mikroorg. f. d. Entstehg. d. Diphth. Mitt. Kais. Ges.-Amt, II, 1884. *62.*

— Der gegenw. Stand der Frage nach der Entsteh. d. Diphth. Deutsche med. Woch., 1890, 81. *62, 69.*

Loew & Kozai, Ueb. d. Bild. des Pyocyanolysins. Malys Jb., 31, 912 (1901). *121.*

Lubenau, Hämolytische Fähigkeit einiger pathogener Schizomyceten. C. f. Bakt., 30, 356 (1901). *121, 122.*

Lubowski, Ueber einen atoxischen und avirulenten Diphtheriestamm. Z. f. Hyg., 35, 87 (1900). *7, 67.*

M

Macfadyen & Rowland, An intracellular toxin of the typhoid-bacillus. Proc. Roy. Soc., 71, 77 (1902), ferner C. f. Bakt., 34, 618 (1903). *137.*

MOLTSCHANOFF, Ueber das Gonokokkentoxin und seine Wirkung auf das Centralnervensystem. Münch. med. Woch., 1899, 1013. *142.*

MORAX & ELMASSIAN, Action de la toxine d. sur les muqueuses. Ann. Past., XII, 210 (1898). *77.*

MORAX & MARIE, Action de la chaleur sèche sur la tox. tét. Ann. Past., XVI, 418 (1902). *94.*

MORGENROTH, Zur Kenntnis des Tetanus des Frosches. Arch. internat. d. Pharmacodyn., VII, 265 (1900). *17.*

— Zur Frage d. Antimorphinserums. Berl. klin. Woch., 1903, 21. *4.*

MOSNY & MARCANO, De l'action de la toxine du staphyl. pyog. Sem. méd., 1894, 544. *122.*

A. MOSSO, Die giftige Wirknug des Serum der Mureniden. Arch. f. exper. Path., 25, 111 (1888). *189, 207.*

U. MOSSO, Recherches sur la nature du venin, qui se trouve dans le sang de l' anguille. Arch. ital. d. Biol., XII, 229 (1889). *207.*

MÜLLER, Ueber die Resistenz d. Diphtherieheilserums gegenüber verschiedenen Einflüssen. C. f. Bakt., 24, 251 (1898). *83.*

FRANZ MÜLLER, Beiträge zur Toxikol. des Ricins. Arch. exper. Pathol., 42, 302 (1899). *163.*

MURAWJEW, Das D.-T. und Antit. in ihrer Wechselwirkg. auf das Nervensystem d. Meerschw. Fortschr. d. Med., 1898, 93. *77, 85.*

MYERS, Cobra poison in relation to Wassermanns new theory of immunity. Lancet, 1898, II, 23. *186.*

— The interaction of toxin and antitoxin. Journ. of pathol., VI, 415 (1900). *192.*

N

NEISSER & WECHSBERG, Ueber eine neue einfache Methode z. Beob. von Schädigungen leb. Zellen und Organismen. Münch. med. Woch., 1900, 1261. *125.*

— — Ueb. d. Wirkungsart baktericider Sera. Münch. med. Woch, 1901, Nr. 18, *195.*

— — Ueber das Staphylotoxin. Z. f. Hyg., 36, 299 (1901). *122.*

NENCKI & SCHOUMOW-SIMANOWSKI, Ueber die Entgiftung der Toxine durch die Verdauungssäfte. C. f. Bakt., 23, 840. *18, 79, 99, 178.*

NEUFELD, Zur Wertbestimmung der Tuberkulosegiftpräparate. Deutsche med. Woch., 1899, 13. *150.*

NICATI & RIETSCH, Effets toxiques des produits etc. (Cholera). Compt. rend. de l'acad., 99, 929 (1884). *127.*

NICOLAYSEN, Zur Pathogenität und Giftigkeit der Gonokokken. C. f. Bakt., 22, 305 (1897). *141.*

NICOLLE, Préparation de la toxine diphtérique. Ann. Past., X, 333 (1896). *65.*

NIEMANN, Ueber Tuberkuloseheilserum. Münch. med. Woch., 1897, 59. *148.*

NISSEN, Ueber den Nachweis von Toxin im Blute u. s. w. D. med. Woch. 1891, 775. *109.*

NOBÉCOURT, Action des levures etc. Soc. Biol., 52, 753 (1900). *73.*

NOCARD, Des injections revélatrices de la tuberculine. Recueil de méd. véter. 72, 369. Baumg. Jb., 1895, 705. *147.*

O

OPPENHEIMER, Toxine u. Schutzstoffe. Biol. Centralbl., 1899, 799. *96.*

— Zur Theorie der Fermentprozesse. Münch. med. Woch., 1901. *96.*

— Die Fermente und ihre Wirkungen. 2. Aufl. Leipzig 1903. *10, 45, 96, 133.*

P

PACE, Influenza della tossine difter. Il. Policlin., 7. Baumg. Jb., 1900, 180. *76.*

PADOA, Ueb. d. verschied. Wirkung des Diphtherie- u. Typhustoxins. Riform. med. 1899, Nr. 26; Malys Jb., 1899, 921. *23.*

PALMIRSKI & ORLOWSKI, Medycyna 23. Ref. C. f. Bakt., 19, 916. *83.*

PALTAUF, Diskussion zu dem Vortrag von GRUBER. Wien. klin. Woch., 1901, 51. *104.*

PALTSCHIKOWSKI, Ueb. d. Veränderungen der diphtheritischen Toxine in den Nahrungswegen. Ref. Centralbl. f. Bakt., 25, 843 (1899). *74.*

*PANCERI & GASCO, Agli effetti del veleno della naja egiziana. Atti Acad. Reale Napoli, 1873, p. 73. *189.*

PANE, Ueber d. Heilkraft d. antipneumon. Serums. C. f. Bakt., 21, 664 (1897). *140.*

PARASCANDALO, E. neue Versuchsreihe üb. d. Serotherapie bei Infektionen mit pyogenen Mikroorg. Wiener klin. Woch., 1897, 861. *144.*

PARK, The preparation of Diphteria-Antitoxin. Med. Record, 47, 484 (1895). *66.*

PARK & WILLIAMS, The production of diphtheria toxin. Journ. of exper. med. I, 164 (1896). *64.*

PASQUINI, Sulla presenza del veleno tetanico negli organi. Rif. med., 1902, 22/23. Ref. C. f. Bakt., 31, 117. *102.*

PASSINI, Vers. über die Dauer d. antidiphth. Schutzimpfung. Wien. klin. Woch., 1896, S. 1111. *84.*

PASTEUR & JOUBERT, Étude sur la maladie charbonneuse. Comptes rendus de l'académ., 84, 900 (1877). *155.*

PEIPER, Ueber die Wirkung des KOCHschen Mittels auf Gesunde. Deutsche med. Woch., 1891, 160. *148.*

RÖMER, Ueber Abrinimmunität. Arch. f. Ophthalm., 52, 90 (1901). *176, 177.*

ROUX, Immnnité contre le charbon symptomatiqne. Ann. Past., II, 49 (1888). *160.*

ROUX & BORREL, Tétanos cérébral. Ann. Past., XII, 1898. *99, 103.*

ROUX & CHAMBERLAND, Immunité contre la septicémie. Ann. Past., II, 561 (1887). *160.*

ROUX & VAILLARD, Contrib. à l'étude du tétanos. Ann. Past., VII, 65 (1893). *94.*

ROUX & YERSIN, Contribution à l'étude de la diphtherie. Ann. Past., III, 273 (1889); IV, 385 (1890). *6, 62.*

RUPPEL, Zur Chemie der Tuberkelbazillen. Z. f. phys. Ch., 26, 218 (1898). *150.*

RUPPEL & RANSOM, Ueb. Molekularverhältnisse von Tetanusgiftlösungen. Z. f. phys. Ch., 27, 109 (1899).

RUETE, Ueb. Herstellg. d. Di.-Heilsernms. Münch. med. Woch., 1897, 213. *65.*

S

SACHS, Zur Kenntnis des Krenzspinnengiftes. Hofm. Beitr., II, 125 (1902). *204.*

— Ueber Differenzen der Blutbeschaffenheit in verschied. Lebensaltern. C. f. Bakt., 34, 686 (1903). *205.*

SALKOWSKI, Ueber die Wirkung der Antiseptica auf Toxine. Berl. klin. Woch., 1898, 545 (Nr. 25). *13, 73.*

SALTER, The elimination of bacterial toxins. Lancet, 1898, I, 152. *14, 79.*

SANARELLI, Defense de l'organisme contre les microbes. Ann. Past., VI, 225 (1892). *161.*

— Étndes snr la fièvre typhoide expérim. Ann. Past., VIII, 193 (1894). *136.*

SCLAVO, Ueber d. Bereitnng des Sernms gegen den Milzbrand. C. f. Bakt., 18, 744 (1895). *157.*

SCHÄFFER, Beitr. z. Frage d. Gonokokkentoxine. Fortschr. d. Med., 1897, 813. *142.*

SCHATTENFROH, Ueber die Wirkung von Bakterien-Proteïnen. Z. f. Hyg., XVIII, 456 (1894). *154.*

SCHENK, Ueb. Streptok.-Serum n. Streptokokken-Toxine. Wien. klin. Woch., 1897, 937. *144.*

SCHIERBECK, Ueb. d. Einfluss der CO_2 anf das Wachstum der Diphth.-B. Arch. f. Hyg., 27, 339 (1896). *67.*

SCHNEIDEMÜHL, Ueb. Botulismus beim Menschen und die sog. Gebnrtsparalyse bei Rindern. C. f. Bakt., 24, 619 (1898). *112.*

SCHOLL, Unters. üb. giftige Eiweißkörper bei Cholera asiatica. Arch. f. Hyg., 172 (1892). *128.*

SCHOLTZ, Beitr. z. Biologie d. Gonococcus. Arch. f. Dermatol., 49, 3 (1899). *143.*

SCHULTZE, Spinalpunktion u. Einspritz. v. Antitoxinserum bei Tet. traumaticus. Mitt. Grenzgeb. d. Med. n. Chir., V, 169 (1900). *105.*

SELANDER, La maladie infectiense des porcs. Ann. Past., IV, 545 (1890). *160.*

SELBERG, Beitr. z. Kenntn. d. Giftwirkung d. Schweineseuchenbakterien u. s. w. Diss. Berlin 1896. *161.*

SENG, Ueb. d. qualit. u. quantit. Verhältnisse der Eiweißkörper im Diphtherieheilserum. Z. f. Hyg., 31, 513 (1899). *90.*

SEWALL, Exper. on the preventive inoculation of rattle-snake venom. Journ. of Phys., VIII, 203 (1887). *198.*

SHAKESPEARE, Preliminary report of exper. researches concerning the infections natnre of traumatic tetanus. C. f. Bakt., II, 541 (1887). *101.*

SHARP, The action of the products of the organism of dipht. on the heart of the frog. Journ. of anat. and physiol., 31, 199 (1897). *76.*

SIEBER, Ueb. d. Entgiftnng der Toxine durch die Snperoxyde u. s. w. Z. f. phys. Chem., 32, 573 (1901). *13, 99.*

SIEBER-SCHOUMOWA, Les sérums thérapeutiques anticoccìques. Arch. des sciences biol., IV (1896), 415. *144.*

SILBERSCHMIDT, Contrib. à l'étnde de la swine plagne. Ann. Past., IX, 65 (1895). *161.*

SIROTININ, Die Uebertrag. von Typhusbazillen auf Versnchstiere. Z. f. Hyg., I, 465 (1886). *136.*

SMIRNOW, Ueb. d. Behandlnng der Diphtherie. Berl. klin. Woch., 1894, 683; 1895, 645, 675. *74.*

— Note sur la détermin. dn ponvoir antitoxique du sérum antidiphthérique. Arch. d. scienc. biolog. de St. Pétersbourg, IV, Nr. 3 (1895). *89.*

SMITH, The relation of dextrose to the production of toxine. Journ. of exper. med., IV, 373 (1899). *65.*

SOBERNHEIM, Experim. Unters. üb. Choleragift nnd Choleraschutz. Z. f. Hyg., XIV, 485 (1893). *130.*

SPRINGFELD, Ueb. d. gift. Wirknng des Blutserums des Flussaals. Diss. Greifswald 1889. *208.*

SPRONCK, Snr les conditions, dont dépend la production d. poisons dans les cultures diphthériques. Ann. Past., IX, 759 (1895). *65.*

— Chauffage dn sérum antidiphthérique. Ann. Past., XII, 695 (1898). *83, 84.*

— Prépar. de la tox. dipht. Ann. Past., XII, 701, 1898. *6, 66.*

STEJSKAL, Kritisch-experim. Unt. üb. d. Herztod infolge von Diphth.-Toxin. Z. f. klin. Med., 44, 367 (1902). *76.*

STEPANOFF, Étndes snr la ricine et l'antiricine. Ann. Past., X, 663 (1896). *166.*

STEPHENS & MYERS, Schlangengift. Proc. Path. Soc. Lancet, 1898, I, 644. *199.*

STILLMARK, Ueb. Ricin. Arb. pharm. Inst. Dorpat III, (Stuttgart, Enke), S. 59 (1889). *162.*

SYMANSKI, Sitzungsbericht. Dtsch. med. Woch., 1901, 318 (Vereinsbeil.). *95.*

SZONTAGH & WELLMANN, Vergleichende chem. Unters. üb. d. normale Pferdeserum und das Diphtherieheilserum. Dtsch. med. Woch, 1898, 421. *87.*

T

TAUBER, Ein Beitr. z. Kenntnis d. Tetanus. Wien. klin. Woch., 1898, 747. *109.*

TCHISTOVITSCH, Études sur l'immunisation contre le sérum d'anguille. Ann. Past., XIII, 406 (1899). *210.*

TEISSIER & GUINARD, Effets des toxines microbiennes. Arch. méd. expér., IX, 994 (1897). *23.*

THOMAS, Boston med. and surg. journ., Nr. 4 ff., 1898. *77.*

TICHOMIROFF, Ueber die Fällg. v. Toxalbuminen durch Nukleïnsäure. Z. f. physiol. Ch., 21, 90 (1895). *164.*

TIZZONI, Ueb. d. experim. Immunität gegen Tetanus. Festschrift für VIRCHOW. Berlin 1892. III, 29. *111.*

TIZZONI & CATTANI, Sur le poison du tétanos. Arch. ital. d. biolog., XIV, 101 (1890). *92.*

— — Sur les proprietés de l'antitoxine du tétanos. Arch. ital. de biolog., XVI, 394 (1891). *111.*

— Ueber d. Eigenschaften d. Tetanus-Antitoxins. C. f. Bakt., IX, 685 (1891).

— Fernere Unters. üb. das Tetanus-Antitoxin. C. f. Bakt., X, 33 (1891). *111.*

*TIZZONI & CENTANNI, Real. Accad. Bologna 1909. *119.*

VAN TOURENHOUT, Over de bereiding van diphteriegif. Utrecht 1895. Ref. Centralbl. f. Bakt., XVIII, 295 (1895). *65.*

U

USCHINSKY, Ueber eine eiweißfreie Nährlösung f. pathog. Bakt. Centralbl. f. Bakt., XIV, 316 (1893). *93.*

— Les poisons de la diphthérie et du choléra. Arch. d. méd. exp., 1893, 293. *6, 72.*

— Ueber Diphtheriekulturen auf eiweißfreier Nährlösung. Centralbl. f. Bakt., 21, 146 (1897). *72.*

V

VAILLARD, Sur l'immunité contre le tétanos. Soc. Biol., 43, 147 (1891). *92.*

VAILLARD, Sur quelques points concernant l'immunité contre le tétanos. Ann. Past., VI, 224 (1892). *92.*

VAILLARD & ROUGET, Ann. Past., VI, 385 (1892). *92.*

VALENTIN, Ueb. d. Giftw. d. nordafrik. Skorpiones. Z. f. Biol., XII, 170 (1876). *205.*

— Einige Beobachtg. üb. d. Wirkg. des Viperngiftes. Z. f. Biol., XIII, 80 (1877). *182, 189.*

VAUGHAN, The intracellular toxins o. some of the pathogenic bact. Journ. Amer. med. assoc., 1903, p. 828. Bioch. Centr., I, Nr. 1056. *138.*

VAN DE VELDE, Beitr. z. Kenntnis der antitox. Kraft d. antidiphth. Serums. C. f. Bakt., 22, 527. *83.*

— Étude s. l. mécanisme de virulence du staphylocoque pyogène. La cellule, X. *122.*

— Contribution à l'immunité des lapins contre le staphylocoque. Ann. Past., X, 580 (1896). *122.*

VERHOGEN & BAERT, Premières recherches sur la nature du tétanos. Baumgartens Jahresber., 1899, 198. *101.*

VINCENZI, Ueb. antitoxische Eigenschaften der Galle tetanisierter Tiere. Dtsch. med. Woch., 1898, 534. *99.*

VULPIUS, Ueb. einen Fall von Wundstarrkrampf mit Tiervers. Dtsch. med. Woch., 1893, 992. *100.*

W

WALL, On the poisons of certain species of Indian snakes. Proc. Roy. Soc., 32, 333 (1881). *182.*

*WARDEN & WADDELL, Non-bacillar nature of Abrus poison. Calcutta 1884. *176.*

WASHBOURN, Experiments with the pneumococcus. Journ. of path., III, 142. Baumg. Jahresb., 1895, 62. *140.*

A. WASSERMANN, Unt. üb. Immun. geg. Chol. asiatica. Z. f. Hyg., XIV, 35 (1893). *128.*

— Ueb. Concentrierung v. Antitoxin aus Milch. Z. f. Hyg., XVIII, 236 (1894). *87.*

— Ueber die persönliche Disposition u. Prophylaxe gegen Diphtherie. Z. f. Hyg., XIX, 408 (1895). *15, 82.*

— Unters. üb. einige theoret. Punkte d. Immunitätslehre. Z. f. Hyg., 22, 263 (1896). *115.*

— Weitere Mitteil. über Seitenkettenimmunität. Berl. klin. Woch., 1898, 209. *17, 141.*

— Gonokokkenkultur und Gonokokkengift. Berl. klin. Wochenschr., 1897, 685.

— Weitere Mitteilungen über do. Z. f. Hyg., 27, 298 (1898). *141.*

WASSERMANN & PROSKAUER, Ueb. die von d. Diphtheriebazillen erzeugten Toxalbumine. Deutsche med. Woch., 1891, 585. *70.*

WASSERMANN & TAKAKI, Ueber tetanusantitoxische Eigenschaften des Centralnervensystems. Berl. klin. Woch., 1898, S. 5. *17, 104.*

WEHRMANN, Sur les propr. toxiques du sang etc. Ann. Past., XI, 810 (1897). *208.*

WEINGEROFF, Zur Kenntnis des Hämolysins des Bac. pyocyan. C. f. Bakt., 29, Nr. 20 (1901). *120.*

WENDELSTADT, Einw. v. Glykogen auf hämolyt. Vorgänge. C. f. Bakt., 34, 831 (1903). *210.*

WERHOFSKY, Beitr. z. pathol. Anat. der Abrinvergiftung. Zieglers Beitr. z. pathol. Anat., XVII, S. 115 (1895). *176.*

WERNICKE, Ueb. Immun.-Vers. b. d. Beulenpest. C. f. Bakt., 24 (1898). *138.*

WESBROOK, Contrib. à l'étude d. toxines du Choléra. Ann. Past., VIII, 318 (1894). *128.*

WLADIMIROFF, Antitoxinerzeug. d. Tet.-Giftes. Z. f. Hyg., XV, 405 (1893). *93.*

WOLFENDEN, The venom of the indian cobra. Journ. of phys., VII, 327 (1886). *184.*

— The venom of the indian viper (Daboia). Journ. of phys., VII, 357. *184.*

WOOLDRIDGE, Note on the protection in Anthrax. Proc. Roy. Soc., 42, 312 (1887). *155.*

— Vers. ü. Schutzimpfung auf chemischem Wege. Du Bois Arch., 1888, 527. *155.*

Z

ZINNO, Beit. z. Stud. d. Entstehung d. Toxine. C. f. Bakt., 31, 42 (1902). *6.*

Sachregister.

Druck von Breitkopf & Härtel in Leipzig.


RM 741
904 O
Date Due
Demco 293-5



